

**HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR AKTIVITAS SENYAWA 1-
BENZENE ACYL – 2-(METHYLINDOL-3-YL)-BENZIMIDAZOLE
SEBAGAI INHIBITOR POLIMERISASI TUBULIN DAN
ANTIPROLIFERASI MCF-7 SERTA STUDI FARMAKOFOR, VIRTUAL
SCREENING, DOCKING MOLEKULER, UJI TOKSISITAS, DAN PROFIL
FARMAKOKINETIK SEBAGAI INHIBITOR POLIMERISASI TUBULIN.**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi
Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

ST. HASMA NUR PUTRIANI
NIM. 70100112117

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN ALAUDDIN MAKASSAR**

2016

**HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR AKTIVITAS SENYAWA 1-
BENZENE ACYL – 2-(METHYLINDOL-3-YL)-BENZIMIDAZOLE
SEBAGAI INHIBITOR POLIMERISASI TUBULIN DAN
ANTIPROLIFERASI MCF-7 SERTA STUDI FARMAKOFOR, VIRTUAL
SCREENING, DOCKING MOLEKULER, UJI TOKSISITAS, DAN PROFIL
FARMAKOKINETIK SEBAGAI INHIBITOR POLIMERISASI TUBULIN.**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi
Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

ST. HASMA NUR PUTRIANI

NIM. 70100112117

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN ALAUDDIN MAKASSAR**

2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penyusun yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusun sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, 25 februari 2016

Penyusun,

St. Hasma Nur Putriani

NIM: 70100112117



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah swt. atas rahmat dan Hidayah-Nya berupa nikmat akal dan pikiran yang diberikan serta limpahan ilmu yang tiada hentinya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini dengan baik. Shalawat dan salam juga tak lupa pula kita curahkan kepada Nabi besar junjungan kita Nabi Muhammad saw, keluarga, dan para sahabat serta orang-orang yang mengikutinya.

Skripsi yang berjudul "Hubungan Kuantitatif struktur Aktivitas Turunan Senyawa *1-benzene acyl-2-(Methylindol-3-yl)-Benzimidazole* Sebagai Inhibitor Polimerisasi Tubulin dan Antiproliferasi MCF-7 serta Studi Farmakofor, Virtual screening, Docking Molekuler, Uji Toksisitas, dan Profil Farmakokinetik sebagai inhibitor Polimerisasi Tubulin." ini dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana dari Program Studi Farmasi pada Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.

skripsi ini selesai tentunya tak lepas dari dorongan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis menyadari banyak kendala yang dihadapi dalam penyusunan skripsi ini, namun berkat doa, motivasi dan kontribusi dari berbagai pihak, kendala tersebut mampu teratasi dan terkendali dengan baik. Penulis mengucapkan terima kasih terutama pada Allah swt. atas rahmat, berkah, kesehatan, nikmat iman dan islam, serta ampunan-Nya. Kepada Nabi Muhammad saw sebagai teladan umat manusia sepanjang zaman, yang membawa manusia pada perubahan dan kebaikan.

Dalam kesempatan ini, penulis juga ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu penelitian ini hingga skripsi ini selesai dibuat, terutama kepada:

1. Allah SWT yang dengan tuntunan serta limpahan kasih-Nya mengajarku arti dan kekuatan dalam hidup,
2. Bapak Prof. Dr. H. Musafir Pababari, M.Si selaku Rektor UIN Alauddin Makassar dan bapak DR. dr. Andi Armyn Nurdin, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
3. Ibu Dr. Nurhidayah, S.Kep. Ns, M.Kes. selaku Wakil Dekan I, ibu Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M.Kes. selaku Wakil Dekan II, dan bapak Dr. Mukhtar Lutfi, M.Ag. selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
4. Ibu Haeria, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar,
5. Bapak Nursalam Hamzah, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan, serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis.
6. Nur Syamsi Dhuha, S.Farm., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis.
7. Ibu Haeria, S.Si., M.Si selaku penguji kompetensi yang telah memberikan saran dan arahnya dalam penyempurnaan skripsi.

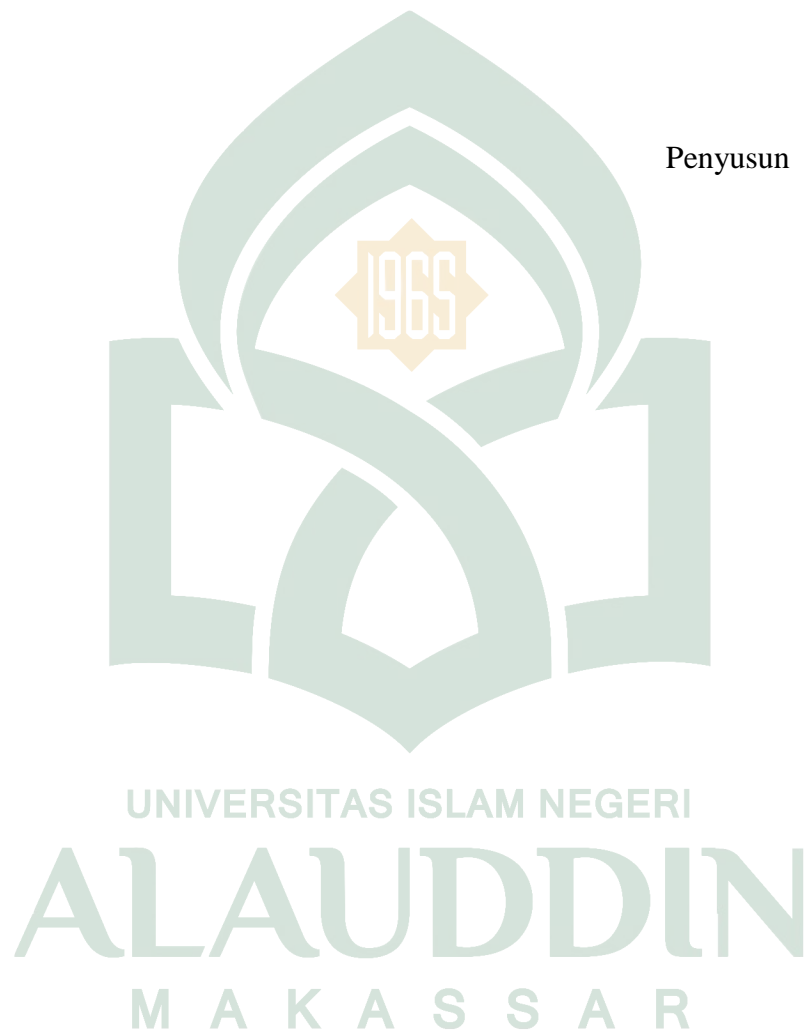
8. Dr.Firdaus, M.Ag. selaku penguji agama yang telah memberikan saran dan pengarahan untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Bapak, Ibu Dosen, serta seluruh Staf Jurusan Farmasi atas curahan ilmupengetahuan dan segala bantuan yang diberikan pada penulis sejak menempuh pendidikan farmasi hingga saat ini.
10. Orang tua tercintaIbunda Hj. Hamsiah dan Ayahanda Hasanuddin Tutu S.Sos., saudari St. Hasna Nur Pitrianti Rinne, serta semua anggota keluarga besar termasuk kakanda Serda Irpan Sahir, Susilawati, Rosdiana, Serda Syamsuddin, kakanda Amir, dan lain-lain yang senantiasa memberi do'a, motivasi, dan dukungan dengan setulus hati.
11. Teman-teman seperjuangan kimia komputasi, Aprianti, Latri Rezky Amahoru, Fuada Haerana Rifai, Mania Imania Majejareng, dan Muhammad Darwis. Kalian Luar Biasa.
12. Teman-teman seperjuangan di Farmasi angkatan 2012 "Isohidris". Terimakasih atas kebersamaan dan bantuannya selama ini.
13. Kakak-kakak termasuk kak Andri Anugrah, kak Resa Alyanta Ramadhan, kak Harsya, dan lain-lain beserta adik-adik di Farmasi UIN Alauddin Makassar yang juga selalu memberi dukungan, serta pihak-pihak yang tidak sempat dituliskan.

Skripsi ini dapat diselesaikan berkat kerja sama dan dukungan dari berbagai pihak untuk menyelesaikannya dengan baik. Tetapi, penulis sadar sepenuhnya bahwa makalah ini masih jauh dari kesempurnaan atau masih membutuhkan suatu perbaikan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan

kritik dari berbagai pihak baik dosen maupun teman-teman yang bersifat membangun agar dapat lebih disempurnakan lagi untuk kedepannya. Semoga tulisan ini dapat bernilai ibadah dan bermanfaat dengan segala keterbatasannya.

Makassar, 25 Februari 2016

Penyusun



DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian	6
1. Definisi Operasional.....	6
2. Ruang Lingkup Penelitian.....	8
C. Kajian Pustaka	9
D. Tujuan dan Kegunaan Penelitian.....	9
1. Tujuan Penelitian.....	9
2. Kegunaan Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN TEORITIS	11
A. Tinjauan Islam.....	11

	A. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas	15
	B. Penelusuran Farmakofor.....	22
	C. <i>Virtual Screening</i>	27
	D. <i>Docking</i> Molekul.....	29
	E. Prediksi In Silico dari Sifat ADME/T31	
	F. Kanker Payudara.....	31
	G. Tubulin (<i>Microtubulus</i>) Sebagai Target Obat	51
	F. Senyawa Benzimidazole (1-benzene acyl-2-(Methylindol-3-yl)-Benzimidazole) Sebagai Inhibitor Polimerisasi Tubulin dan Antiprolifersi MCF-7	53
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN.....	57
	A. Jenis dan Lokasi Penelitian	57
	1. Jenis Penelitian.....	57
	2. Lokasi Penelitian.....	57
	B. Pendekatan Penelitian	57
	C. Sumber Data.....	57
	D. Alat dan Bahan.....	57
	E. Prosedur Kerja.....	58
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	71
BAB V	PENUTUP	94
	A. Kesimpulan	94
	B. Implikasi.....	95
	C. KEPUSTAKAAN	96

D. LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	101
E. DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	113



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Skema Kerja.....	101
Lampiran II	Nilai deskriptor senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methyldol-3yl)-bensimidazole.....	105
Lampiran III	Nilai perbandingan afinitas eksperimen dan afinitas Prediks.....	106
Lampiran IV	Kurva hubungan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi model persamaan terbaik	107
Lampiran V	Hasil Docking molekul 8 senyawa hits pada protein 1SA1.....	108
Lampiran VI	Interaksi senyawa turunan benzamida pada protein 1SA1.....	110
Lampiran IX	Posisi senyawa turunan benzamida pada protein 1SA1.....	112

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Daftar deskriptor.....	17
Tabel II.2	Struktur Senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methylindol-3yl)-bensimidazole.....	54
Tabel II.3	Data Aktivitas Inhibisi (MIC) Senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methylindol-3yl)-bensimidazole.....	55
Tabel III.1	Daftar deskriptor.....	61
Tabel IV.1	Hasil regresi multilinier metode <i>backward</i>	72
Tabel IV.2	Perbandingan Kriteria Statistik untuk menentukan persamaan terbaik	75
Tabel IV.3	Kombinasi deskriptor dengan nilai kriteria statistik dan validasi <i>Leave One Out</i> (q2)	76
Tabel IV.4	Database 8 macam senyawa natural prouck yang <i>hits</i>	82
Tabel IV.5	Aturan lipinski dari 8 senyawa hits terbaik	86
Tabel IV.6	Hasil prediksi toksisitas dengan menggunakan toxtree dan admetsar	89
Tabel IV.7	Hasil prediksi farmakokinetik menggunakan PreADMET	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Penyebaran kanker payudara.....	36
Gambar II.2	Mekanisme apoptosis.....	49
Gambar II.3	Rangkaian tubulin alfa dan beta.....	52
Gambar II.4	Senyawa penuntun 1-benzene acyl-2-(methylindol-3yl)-benzimidazole.....	54
Gambar III.1	Jendela <i>Hyperchem</i>	58
Gambar III.2	Panel Optimasi <i>Ab Initio</i> menggunakan program <i>Hyperche</i>	59
Gambar III.3	Jendela <i>Database Viewer</i>	60
Gambar III.4	Jendela <i>Protonote 3D</i>	64
Gambar III.5	Jendela <i>Dock</i>	65
Gambar III.6	Tampilan panel <i>Pharmacophore Query Editor</i>	66
Gambar III.7	Jendela Toxtree	69
Gambar III.8	Jendela AdmetSAR	69
Gambar III.9	Jendela PreADMET	70
Gambar IV.1	Kurva hubungan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi model persamaan terbaik	75
Gambar IV.2	Skruktur 3 dimensi pengikatan ligan dengan protein (tubulin).....	78
Gambar IV.3	<i>Query Pharmacopore</i>	80
Gambar IV.4	Jarak fitur farmakofor dalam <i>query</i> farmakofor	80
Gambar IV.5	Panel Pharmacopore Search.....	82
Gambar IV.6	Posisi ligan asli protein 1SA1.....	84

Gambar IV.7	Interaksi validasi ligan asli protein 1SA1.....	84
Gambar IV.8	Asam Amino yng berperan dari interaksi Ligan (colchicine) dengan tubulin.....	85



ABSTRAK

Nama : St. Hasma Nur Putriani

NIM : 70100112117

Judul : Hubungan Kuantitatif struktur Aktivitas Turunan Senyawa 1-benzene acyl-2-(Methylindol-3-yl)-Benzimidazole Sebagai Inhibitor Polimerisasi Tubulin dan Antiproliferasi MCF-7 serta Studi Farmakofor, Virtual screening, Docking Molekuler, Uji Toksisitas, dan Profil Farmakokinetik sebagai inhibitor Polimerisasi Tubulin.

Penelitian studi hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) pada Turunan 1-benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole sebagai inhibitor polimerisasi tubulin dan antiproliferasi MCF-7 serta penelusuran farmakofor, virtual screening, docking molekul, uji toksisitas, dan profil farmakokinetik sebagai inhibitor polimerisasi tubulin telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan sifat fisika-kimia yang berperan penting sebagai inhibitor polimerisasi tubulin dan antiproliferasi MCF-7 untuk pengobatan kanker payudara berdasarkan persamaan HKSA dan asam amino yang penting dalam interaksi dengan protein reseptor. Prosedur dimulai dengan pemodelan dan optimasi geometri struktur molekul yang dibuat dengan HyperChem 8.0. Optimasi geometri dilakukan dengan metode *Ab initio*. Deskriptor HKSA dihitung dengan menggunakan MOE 2009. Selanjutnya dilakukan analisis statistik untuk melihat hubungan antara aktivitas dengan sifat kimia fisika. Validasi silang *Leave One Out* digunakan untuk memperoleh persamaan HKSA dengan kriteria statistik yang signifikan. Kemudian penentuan fitur farmakofor dan docking molekul, Selanjutnya pengujian toksisitas dengan perangkat lunak Toxtree dan AdmetSAR, serta penentuan profil farmakokinetik dengan menggunakan program berbasis web PreADME dilakukan untuk 170.000 senyawa *natural product* dari zinc database. Dari penelitian didapatkan model persamaan HKSA terbaik dari deskriptor persamaan terbaik di atas, yaitu: $\text{Log IC}_{50} = 8,660 - 0,000209 \text{ AM1-E} - 0,0000164 \text{ AM1_Eele} - 3,825 \text{ Glob} + 0,762 \log P (\text{O/W})$, dimana nilai $r = 0,926$; $q^2 = 0,789$; $F = 28,765$; standar error = 0,218 dan nilai R^2 (R kurva MIC eksperimen vs MIC prediksi) = 0,792. Asam amino yang penting dalam interaksi protein reseptor dengan senyawa yang bekerja pada target tubulin adalah Asn258, Lys352, Leu255. *Query farmakofor* yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor memiliki fitur gugus hydrogen-bond acceptor (F1 dan F4: Acc), hydrogen-bond donor (F5: Don), serta cincin aomatik dan metil pada gugus metoksi yang hidrofobik (F2 dan F3: Hyd). Hasil *virtual screening* pada zinc database diperoleh delapan senyawa yang *hits* diantara 170.000 senyawa yang dilihat dari sisi kecocokan pada *query farmakofor*, prediksi bioavailabilitas menggunakan aturan Lipinski, prediksi toksisitas, dan prediksi ADME/T.

Kata kunci : HKSA, docking molekul, farmakofor, kanker payudara, tubulin.

ABSTRACT

Name : St. Hasma Nur Putriani

NIM : 70100112117

Title : Quantitative structure activity relationship Compound 1-benzene derivatives of acyl-2- (Methylindol-3-yl) -Benzimidazole As Tubulin Polymerization Inhibitor and Antiproliferasi MCF-7 and Farmakofor Studies, Virtual screening, Molecular Docking, Test Toxicity and pharmacokinetics profile as polymerisation inhibitor tubulin

Research study of quantitative structure-activity relationship (QSAR) in 1-benzene derivatives of acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole as tubulin polymerization inhibitors and anti-proliferation of MCF-7 and farmakofor search, virtual screening, molecular docking, test toxicity and pharmacokinetic profiles as inhibitors of tubulin polymerization has been carried out. The purpose of this study was to determine the physical-chemical properties play an important role as inhibitors of tubulin polymerization and antiproliferasi MCF-7 for the treatment of breast cancer based on QSAR equation and amino acids that are important in the interaction with the receptor protein. The procedure begins with geometry modeling and optimization of molecular structures made with HyperChem 8.0. The geometry optimization Ab initio methods. QSAR descriptor calculated using MOE 2009. Subsequently performed statistical analysis to look at the relationship between the activity of the chemical properties of physics. Leave One Out cross-validation is used to derive QSAR equation with statistically significant criteria. Then determination farmakofor features and molecular docking, Further toxicity testing with software Toxtree and AdmetSAR, as well as the determination of the pharmacokinetic profile using a web-based program PreADME do to 170,000 natural product compounds of zinc database. From the research showed the best QSAR equation model of descriptors best equation above, namely: $\text{Log IC}_{50} = 8.660 - 0.000209 \text{ AM1-E} - 0.0000164 \text{ AM1_Eele} - 3.825 + 0.762 \log P (\text{O} / \text{W})$, where value of $r = 0,926$; $q^2 = 0,789$; $F = 28,765$; standard error = 0,218 and the value of R^2 (R curve of the experimental MIC vs. MIC prediction) = 0,792. Amino acids are important in the interaction with the receptor protein compounds that work in the target tubulin is Asn258, Lys352, Leu255. Query farmakofor that play a role in the interaction of the ligand-receptor features a cluster of hydrogen-bond acceptor (F1 and F4: Acc), hydrogen-bond donor (F5: Don), and the ring aomatik and methyl on the methoxy who hidrifobik (F2 and F3: Hyd). The result of the virtual screening database zinc compound obtained eight hits between 170.000 compounds in terms of suitability for farmakofor query, the prediction of bioavailability using Lipinski rules, toksisis prediction, and prediction of ADME / T.

Keywords: QSAR, molecular docking, farmakofor, breast cancer, tubulin.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kini telah banyak penyakit yang berbeda-beda menyerang banyak orang, diantaranya berupa penyakit yang ringan, sedang, hingga berat diantaranya penyakit yang jinak hingga ganas berupa kanker contohnya kanker payudara yang telah banyak diderita terutama oleh wanita. Kanker atau karsinoma (yunani: karkinos = kepingan) adalah pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas (maligne). Suatu kelompok sel dengan mendadak menjadi liar dan memperbanyak diri secara pesat dan terus menerus (proliferasi) (Tjay dan Rahardja, 2010: 208).

Kini pengobatan yang dilakukan mulai dengan menggunakan obat-obatan herbal kimia, hingga operasi. Oleh karena itu, **Banyak ayat al-Qur'an yang mengisyaratkan tentang pengobatan karena al-Qur'an itu sendiri diturunkan sebagai penawar dan rahmat bagi orang-orang yang mukmin.**

Allah swt. Berfirman dalam QS. Yunus/10: 57.

يَا أَيُّهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَكُمْ مَوْعِظَةٌ مِنْ رَبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِمَا فِي الصُّدُورِ وَهُدًى وَرَحْمَةٌ
لِّلْمُؤْمِنِينَ

Terjemahnya:

Hai manusia, Sesungguhnya telah datang kepadamu pelajaran dari Tuhanmu dan penyembuh bagi penyakit-penyakit (yang berada) dalam dada dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman. (Kementrian Agama RI. 2013: 171).

Ayat ini menegaskan bahwa al-Qur'an adalah obat bagi apa yang terdapat dalam dada. Penyebutan kata dada, yang diartikan dengan hati, menunjukkan bahwa wahyu-wahyu Ilahi itu berfungsi menyembuhkan penyakit-penyakit rohani,

sementara ulama memahami bahwa ayat-ayat al-Qur'an juga dapat menyembuhkan penyakit-penyakit jasmani (Shihab, 2002: 438–439).

Dalam hadis riwayat Bukhari, Rasulullah saw bersabda:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ
لَمْ يَأْتِ اللَّهَ دَاءٌ إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya:

Dari *Abu Hurairah* radiallahu 'anhu dari Nabi shallallahu 'alaihi wasallam beliau bersabda: "Allah tidak akan menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya juga" (Basyier, 2011: 53).

Dari hadits tersebut dapat diteladani bahwa salah satu usaha yang dapat dilakukan dengan melakukan berbagai usaha, salah satunya dengan meneliti senyawa obat baru untuk kemaslahatan umat. Sebab Allah swt. sendiri telah menjanjikan adanya solusi dari tiap permasalahan, begitupun dengan penyakit. Sehingga kita sebagai seorang manusia yang beriman dituntut untuk senantiasa berikhtiar dan melakukan yang terbaik untuk mengkaji pengobatan-pengobatan terbaru. Penyakit dalam hal ini termasuk juga penyakit kanker. Ungkapan “Setiap penyakit ada obatnya” bersifat umum sehingga di dalamnya juga termasuk penyakit-penyakit mematikan dan berbagai penyakit yang masih sulit untuk disembuhkan, seperti kanker. Allah swt. telah menjadikan penyakit dan obat-obatan untuk menyembuhkannya.

Insiden kanker payudara menunjukkan angka 10% dari semua kanker yang terdiagnosa setiap tahun dan 22% dari semua kanker yang terjadi pada wanita pada tahun 2000. Di Bahrain, Mesir, Yordania, Kuwait, Lebanon, Oman, Arab Saudi dan Tunisia, kanker payudara lebih banyak didiagnosis pada wanita di bawah usia 50

tahun, tidak seperti di Amerika Serikat, wanita dengan usia 50 tahun ke atas yang sering terkena (WHO, 2006: 11–12).

American Cancer Society pada tahun 2013 melaporkan perkiraan kasus kanker payudara pada wanita yang menyebabkan kematian dengan berbagai rentang usia, berturut-turut untuk usia di bawah 40 tahun; di bawah 50 tahun; usia 50–64 tahun; dan di atas 65 tahun yaitu 1.020; 4.780; 11.970; dan 22.870 kasus. Perkiraan kasus ini berdasarkan data dari 49 negara pada tahun 1995 hingga 2009 yang dilaporkan oleh North American Association for Central Cancer Registries, serta perkiraan kasus yang menyebabkan kematian berdasarkan data dari US Mortality Data, National Center for Health Statistics, dan Centers for Disease Control and Prevention pada tahun 1995 hingga 2009 (American Cancer Society, 2013: 1).

Rebecca *et al* dalam Cancer Statistic 2013 melaporkan perkiraan jumlah kasus baru kanker payudara di Amerika Serikat pada tahun 2013 menyerang pria sebanyak 2.240 kasus dan pada wanita 232.340 kasus, sedangkan kasus kanker payudara yang menyebabkan kematian pada pria sebanyak 410 dan wanita 39.620 kasus (Siegel *et al*, 2013: 12–14).

Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang terbanyak ditemukan di Indonesia. Biasanya kanker ini ditemukan pada umur 40-49 tahun dan letak terbanyak di kuadran lateral atas (Mansjoer, 2000: 283).

Beberapa sel yang menjadi target obat sebagai antiproliferasi pada kanker payudara seperti MCF-7, MDA-MB-231, dan SKBR non-cancer. MCF-7 merupakan salah satu target sel pada kanker payudara. Ada beberapa obat yang bekerja langsung pada target ini dengan menghambat pertumbuhan kanker payudara dengan tingkat

efektifitas berdasarkan konsentrasi penghambatan pertumbuhan sel kanker yang bekerja pada target ini (Hua Tzeng, 2015: 1).

Senyawa dari turunan 1-benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-bensimidazole merupakan senyawa yang mengandung perubahan kelompok substituen yang didesain, disintesis, dan dievaluasi untuk menghambat aktivitas polimerisasi tubulin dan menghambat aktivitas sel kanker (Wang, 2015: 3).

Tubulin adalah sebuah protein eukariotik esensial tubulin merupakan protein eukariotik esensial yang memainkan peran penting dalam pembelahan sel dan mikrotubulus-target obat yang sekarang sangat diperlukan untuk terapi berbagai jenis kanker di seluruh dunia. Pembentukan mikrotubulus adalah proses dinamis yang melibatkan polimerisasi dan depolimerisasi dari α dan β tubulin dimer heterodimers. Senyawa yang mengganggu keseimbangan mikrotubulin dalam sel yang berguna dalam pengobatan kanker manusia. Mereka mengganggu keseimbangan dinamis ini dengan mengikat Tubulin dan menginduksi penangkapan siklus sel, mengakibatkan kematian sel. Agen antimitosis sebagian besar terdiri dari tiga kelas utama seperti taxanes, paclitaxel, dan docetaxel menstabilkan mikrotubulus dengan mencegah depolymerisation dari tubulin. alkaloid vinca (misalnya vinkristin, vinblastin, dan vinorebline) dan colchicine menghambat polimerisasi tubulin. gangguan dinamika tubulin mengarah ke penangkapan siklus sel di G2 / M fase dan induksi apoptosis (Wang, 2015: 4).

Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) adalah metode komputasi atau model matematik untuk menemukan korelasi signifikan secara statistik antara struktur dan aktivitas. Dari segi desain obat, struktur di sini merujuk pada sifat dari molekul, substituen atau interaksi medan energi, serta aktivitas yang sesuai dengan

suatu eksperimental biologi/biokimia seperti afinitas ikatan, aktivitas, toksisitas atau tingkat konstanta. Berbagai pendekatan HKSA telah dikembangkan secara bertahap selama rentang waktu lebih dari seratus tahun dan berfungsi sebagai metode prediksi aktivitas yang penting, khususnya dalam desain obat-obatan (Verma *et al*, 2010: 95).

Salah satu penerapan kimia komputasi dalam bidang farmasi adalah desain obat. Desain obat merupakan proses iterasi yang mulai dengan penentuan senyawa yang menunjukkan sifat biologi penting dan diakhiri dengan langkah optimasi, baik dari profil aktivitas maupun sintesis senyawa kimia. Tanpa pengetahuan yang lengkap tentang proses biokimia yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis, hipotesis desain obat pada umumnya didasarkan pada pengujian kemiripan skruktural dan perbedaan antara molekul aktif dan tidak aktif. Kombinasi antara strategi untuk mensintesis dan uji aktivitasnya dan menjadi sangat rumit dan memerlukan waktu yang lama untuk sampai pada pemamfaatan obat. Untuk itu, dikembangkan pendekatan teoretis yang dapat menghitung secara kuantitatif tentang hubungan antara aktivitas biologis terhadap perubahan skruktur senyawa yang dikenal sebagai HKSA (Hetadi, 2011: 8).

Hubungan kuantitatif struktur kimia dan aktivitas biologis obat (HKSA) merupakan bagian penting rancangan obat, dalam usaha mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar. Selain itu, dengan menggunakan model HKSA, akan lebih banyak menghemat biaya atau lebih ekonomis, karena untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang dikehendaki, faktor coba-coba ditekan sekecil mungkin. Oleh karena itu, dilakukanlah studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas terhadap senyawa turunan 1- benzene acyl-

2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole yang Potensial sebagai inhibitor poimerisasi tubulin dan sitotoksik pada MCF-7 untuk pengobatan kanker payudara, serta fitur farmakofor, virtual screening, dan mengamati model interaksi serta mengamati study bioavailabilitas dan farmakokinetiknya terhadap senyawa yang bekerja pada target tubulin.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka dalam penulisan ini penulis akan membatasi masalah antara lain;

1. Bagaimana model persamaan HKSA senyawa turunan 1- benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* dan *antiproliferasi MCF-7*?
2. Bagaimana fitur farmakofor ligan yang aktif sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin*?
3. Senyawa-senyawa apa yang aktif sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* berdasarkan fitur farmakofor ligan yang aktif dan reseptornya?
4. Bagaimana model interaksi senyawa yang hits hasil virtual screening terhadap situs pengikatan (*binding site*) terhadap tubulin?
5. Bagaimana prediksi toksisitas dan farmakokinetik senyawa *natural product hits* hasil *virtual screening* terpilih secara *in silico*?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Definisi Operasional

Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) adalah metode yang pada umumnya digunakan untuk menghubungkan struktur molekul dengan aktivitas biologis *in vivo* atau *in vitro*. Tujuan utama dari analisis HKSA ini adalah untuk

menganalisis dan mendeteksi faktor penentu untuk aktivitas terukur pada sistem tertentu. Untuk tujuan ini, beberapa tahap dilakukan untuk mendapatkan persamaan matematika yang menghubungkan aktivitas biologis dengan menggunakan deskriptor struktur molekul dari beberapa senyawa turunan yang digunakan (Winkler, 2002: 74).

Farmakofor merupakan posisi geometric tiga dimensi dari gugus yang terdapat di dalam suatu ligan yang membentuk suatu pola yang unik dan dapat dikenali oleh reseptor secara spesifik yang bertanggung jawab terhadap proses pengikatan ligan dengan suatu reseptor dan aktivitas reseptor tersebut (Mohan, 2005: 311).

Virtual screening didefinisikan sebagai proses evaluasi secara otomatis terhadap kumpulan data senyawa yang sangat besar menggunakan bantuan program komputer yang bertujuan untuk menemukan dan mengidentifikasi senyawa yang baru (*novel*) dan mempunyai aktivitas poten terhadap target yang dituju (zin Database) (Mohan, 2005: 320).

Docking molekul adalah suatu teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. Docking molekuler dapat memprediksi orientasi dari suatu kompleks molekul ke molekul lain ketika berikatan membentuk kompleks yang stabil (Mohan, 2005: 322).

Uji toksisitas merupakan uji hayati yang berguna untuk menentukan tingkat toksisitas dari suatu zat atau bahan pencemar pada suatu organism (Society of Toxicology, 2007: 1-2).

Fase farmakokinetik berkaitan dengan masuknya zat aktif ke dalam tubuh. Pemakaian *in vivo* tersebut secara keseluruhan merupakan fenomena fisiko-kimia yang terpadu di dalam organ penerima obat. Fase farmakokinetik ini merupakan salah

satu unsur penting yang menentukan profil keberadaan zat aktif pada tingkat biofase dan selanjutnya menentukan aktivitas terapeutik obat (Aiache *et al*, 1993: 7).

Tubulin memainkan peran penting dalam pembelahan sel dan mikrotubulus-target obat yang sekarang sangat diperlukan untuk terapi berbagai jenis kanker di seluruh dunia. pembentukan mikrotubulus adalah proses dinamis yang melibatkan polimerisasi dan depolimerisasi (Wang, 2015: 4).

Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian (Human Breast Carcinome Cell). Sel tersebut diambil dari jaringan payudara seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel adherent (melekat) yang dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM atau RPMI yang mengandung foetal bovine serum (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin 1% . Sel MCF-7 memiliki karakteristik antara lain resisten agen kemoterapi dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Wang, 2015: 33).

2. Ruang Lingkup Penelitian

Menentukan sifat fisika-kimia dari senyawa turunan *1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole* yang berperan penting sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* dan sitotoksik terhadap *sel MCF-7* untuk penyakit kanker payudara berdasarkan model HKSA, menentukan fitur farmakofor ligan yang aktif terhadap polimerisasi tubulin dan antiproliferasi MCF-7, melakukan *virtual screening* senyawa-senyawa *natural product* yang berpotensi sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* dan antiproliferasi MCF-7 berdasarkan fitur farmakofor ligan yang aktif dan reseptornya, mengamati interaksi yang terjadi antara senyawa turunan *1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole* terhadap situs pengikatan *pada* tubulin, serta memprediksi toksisitas

dan farmakokinetik senyawa *natural product hits* hasil *virtual screening* terpilih secara *insilico*.

D. Kajian Pustaka

Sebagai bahan penelitian digunakan data nilai afinitas hasil eksperimen secara *in vitro* terhadap satu seri senyawa turunan 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole yang diambil dari jurnal hasil penelitian Yang-Ting Wang, Ya-Juan Qin, Ya-Liang Zhang, Chang-Hong Liu, Hai-Liang Zhu (2015) dengan judul *Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking studies of Novel 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole Derivatives as Potential Tubulin Polymerization Inhibitor and For The cytotoxicity against anthrpic cancer cell lines*, yang menjelaskan mengenai kemampuan suatu senyawa turunan 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole yang menghambat polimerisasi tubulin dan aktivitasnya sebagai antiproliferasi terhadap sel MCF-7 yang berperan dalam pertumbuhan kanker payudara. 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole, dengan ligan aktif yang paling poten menghambat aktivitas polimerisasi tubulin ($IC_{50} = 1,5 \mu m$) dan aktivitas Q549, LepG2 dan MCF-7 ($GI_{50} = 2.4, 3.8$ dan $5.1 \mu m$, respectively).

E. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

1. Tujuan Penelitian

- Menemukan model persamaan HKSA senyawa turunan 1- benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* dan *antiproliferasi MCF-7*.
- Menemukan fitur farmakofor ligan yang aktif sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* dan *antiproliferasi MCF-7*.

- c. Menemukan senyawa-senyawa natural produk hasil virtual screening yang aktif sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* berdasarkan fitur farmakofor ligan yang aktif dan reseptornya.
- d. Mengamati model interaksi senyawa yang hits hasil virtual screening terhadap situs pengikatan (*binding site*) terhadap tubulin
- e. Menemukan hasil prediksi toksisitas dan farmakokinetik senyawa *natural product hits* hasil virtual screening terpilih secara *in silico*?

2. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini berguna untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya sebagai upaya untuk mendapatkan senyawa-senyawa baru turunan 1-benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole sebagai obat kanker payudara. Hasil prediksi aktivitas melalui studi HKSA ini berguna dalam menentukan senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole, serta *Docking* molekul, dan penelusuran fitur farmakofor dalam menentukan senyawa yang bekerja sebagai *inhibitor* polimerisasi tubulin ini yang akan disintesis dan diuji lebih lanjut sebagai senyawa anti kanker payudara. Selain itu, hasil *virtual screening*, prediksi toksisitas dan farmakokinetik terhadap senyawa *natural products* dari *zinc database* berdasarkan fitur farmakofor diharapkan dapat membantu untuk memperoleh senyawa yang dapat dikembangkan sebagai *inhibitor* Polimerisasi tubulin.

BAB II

TINJAUAN TEORETIS

A. Tinjauan Islam

Islam adalah agama yang sempurna. Semua aspek atau bidang kehidupan diatur di dalam Islam, baik aspek spritual maupun sosial, politik dan ekonomi, sehingga tidak mengherankan jika umat Islam mendapati sesuatu permasalahan dalam bidang apapun mereka merujuk pada al-Qur'an dan hadis. Mereka pasti mendapatkan solusi permasalahan darinya, begitu pula dengan hal-hal yang berkaitan dengan penyakit (Izzan, 2010: 7).

Islam adalah *dīn* yang *syāmil* (eñtegral), *kāmil* (sempūrna), dan *mutakāmil* (menyempurnakan semua sistem yang lain), karena merupakan sistem hidup yang diturunkan oleh Yang Maha Mengetahui dan Maha Bijaksana, Hal ini didasarkan pada firman Allah swt. dalam QS. Al-Maidah/5: 3.

حُرِّمَتْ عَلَيْكُمْ أَلْمَيْتَةُ وَالْدَّمُ وَلَحْمُ الْخَنزِيرِ وَمَا أُهِلَّ لِغَيْرِ اللَّهِ بِهِ وَالْمُنْخَنِقَةُ
وَالْمَوْقُوذَةُ وَالْمُتَرَدِّيَةُ وَالنَّطِيحَةُ وَمَا أَكَلَ السَّبُعُ إِلَّا مَا ذَكَّيْتُمْ وَمَا ذُبِحَ عَلَى النُّصُبِ
وَأَنْ تَسْتَقْسِمُوا بِالْأَزْلَمِ ۚ ذَٰلِكُمْ فِسْقٌ ۗ الْيَوْمَ يَيسُ الَّذِينَ كَفَرُوا مِنْ دِينِكُمْ فَلَا
تَخْشَوْهُمْ وَاخْشَوْنَ ۗ الْيَوْمَ أَكْمَلْتُ لَكُمْ دِينَكُمْ وَأَتِمَمْتُ عَلَيْكُمْ نِعْمَتِي وَرَضِيتُ لَكُمُ
الْإِسْلَامَ دِينًا ۚ فَمَنِ اضْطُرَّ فِي مَخْمَصَةٍ غَيْرِ مُتَجَانِفٍ لِإِثْمٍ ۖ فَإِنَّ اللَّهَ غَفُورٌ رَحِيمٌ ﴿٢٥٦﴾

Terjemahnya:

Diharamkan bagimu (memakan) bangkai, darah, daging babi, (daging hewan) yang disembelih atas nama selain Allah, yang tercekik, yang terpukul, yang jatuh, yang ditanduk, dan diterkam binatang buas, kecuali yang sempat kamu menyembelinya, dan (diharamkan bagimu) yang disembelih untuk berhala. dan (diharamkan juga) mengundi nasib dengan anak panah, (mengundi nasib dengan anak panah itu) adalah kefasikan. pada hari ini orang-orang kafir telah putus asa untuk (mengalahkan) agamamu, sebab itu janganlah kamu takut kepada mereka dan takutlah kepada-Ku. pada hari ini telah Kusempurnakan untuk kamu agamamu, dan telah Ku-cukupkan kepadamu nikmat-Ku, dan telah Ku-ridhai Islam itu Jadi agama bagimu. Maka barang siapa terpaksa karena kelaparan tanpa sengaja berbuat dosa, Sesungguhnya Allah Maha Pengampun lagi Maha Penyayang. (Kementrian Agama RI. 2013: 215).

Ayat ini menggunakan kata Ku-sempurnakan (*akmaltu*) untuk agama dan Ku-cukupkan (*atmamtu*) untuk nikmat-nikmat. Pemilihan *akmaltu* untuk agama memberi isyarat bahwa petunjuk-petunjuk agama yang beraneka ragam itu kesemuanya, dan masing-masingnya, telah sempurna. Adapun nikmat, ia dicukupkan, misalnya kesehatan, kekayaan, keturunan, kedudukan, dan lain-lain. Ayat ini menjelaskan bahwa Islam mencakup semua sisi yang dibutuhkan oleh manusia dalam kehidupannya, demikian tinggi, indah dan terperinci aturan Sang Maha Rahman dan Rahim ini, sehingga bukan hanya mencakup aturan bagi sesama manusia saja, melainkan juga terhadap alam, lingkungan hidup dan ilmu pengetahuan (Shihab, 2002, 3: 27-28).

Kemudian seruan untuk mengambil pelajaran daripada firman Allah swt. sebagai penyembuh berbagai penyakit yang tertera pada QS. Yunus/10: 57-58.

يٰۤاَيُّهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَ تَكْمُ مَوْعِظَةٌ مِّن رَّبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِّمَا فِي الصُّدُورِ وَهُدًى وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ ﴿٥٧﴾ قُلْ بِفَضْلِ اللَّهِ وَبِرَحْمَتِهِ فَبِذَلِكَ فَلْيَفْرَحُوا هُوَ خَيْرٌ مِّمَّا تَجْمَعُونَ ﴿٥٨﴾

Terjemahnya:

Hai manusia, Sesungguhnya telah datang kepadamu pelajaran dari Tuhanmu dan penyembuh bagi penyakit-penyakit (yang berada) dalam dada dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman (57). Katakanlah: "Dengan kurnia Allah dan rahmat-Nya, hendaklah dengan itu mereka bergembira. kurnia Allah dan rahmat-Nya itu adalah lebih baik dari apa yang mereka kumpulkan" (58). (Departemen Agama RI. 2013: 171).

Ayat ini menegaskan bahwa al-Qur'an adalah obat bagi apa yang terdapat dalam dada. Penyebutan kata dada, yang diartikan dengan hati, menunjukkan bahwa wahyu-wahyu Ilahi itu berfungsi menyembuhkan penyakit-penyakit ruhani seperti ragu, dengki, dan takabur. Hati juga yang mampu melahirkan ketenangan dan kegelisahan serta menampung sifat-sifat baik dan terpuji. Sementara ulama memahami bahwa ayat-ayat al-Qur'an juga dapat menyembuhkan penyakit-penyakit jasmani (Shihab, 2002, 5: 438–439).

Ayat di atas menegaskan adanya empat fungsi Al-Qur'an : *pengajaran, obat, petunjuk, serta rahmat*. Thahir Ibn „Asyur mengemukakan bahwa ayat ini memberi perumpamaan tentang jiwa manusia dalam kaitannya dengan kehadiran Al-Qur'an. Para ulama memberi ilustrasi lebih kurang sebagai berikut. Seseorang yang sakit adalah yang tidak stabil kondisinya, timpang keadaannya, lagi lemah tubuhnya. Ia menanti kedatangan dokter yang dapat memberinya *obat* guna kesembuhannya. Sang dokter tentu saja perlu memberi *peringatan* kepada pasien ini menyangkut sebab-sebab penyakitnya dan dampak-dampak kelanjutan penyakit itu, lalu memberinya *obat* guna kesembuhannya, kemudian memberinya *petunjuk* dan saran tentang cara hidup sehat agar kesehatannya dapat terpelihara sehingga penyakit yang dideritanya tidak kambuh lagi. Jika yang bersangkutan memenuhi tuntutan sang dokter, niscaya

ia akan sehat sejahtera dan hidup bahagia serta terhindar dari segala penyakit. Dan itulah *rahmat* yang sungguh besar (Shihab, 2009 . 5 : 440).

Penyakit dalam hal ini termasuk juga penyakit kanker. Ungkapan “Setiap penyakit ada obatnya” bersifat umum sehingga di dalamnya juga termasuk penyakit-penyakit mematikan dan berbagai penyakit yang masih sulit untuk disembuhkan, seperti kanker. Allah swt. telah menjadikan penyakit dan obat-obatan untuk menyembuhkannya. Dalam penelitian ini, akan dilakukan studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas prinsip dari metode ini didasarkan pada keteraturan pola gugus fungsi dari struktur senyawa kimia yang akan diteliti. Hal ini berdasar pada prinsip keteraturan yang telah ada dalam al-Qur'an, seperti pada QS. Yunus/10: 5–6.

هُوَ الَّذِي جَعَلَ الشَّمْسُ ضِيَاءً وَالْقَمَرَ نُورًا وَقَدَرَهُ مَنَازِلَ لِتَعْلَمُوا عَدَدَ السِّنِينَ
وَالْحِسَابَ مَا خَلَقَ اللَّهُ ذَلِكَ إِلَّا بِالْحَقِّ يُفَصِّلُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَعْلَمُونَ ﴿٥﴾ إِنَّ فِي
أَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَمَا خَلَقَ اللَّهُ فِي السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَّقُونَ ﴿٦﴾

Terjemahnya:

Dia-lah yang menjadikan matahari bersinar dan bulan bercahaya dan ditetapkan-Nya manzilah-manzilah (tempat-tempat) bagi perjalanan bulan itu, supaya kamu mengetahui bilangan tahun dan perhitungan (waktu). Allah tidak menciptakan yang demikian itu melainkan dengan hak. Dia menjelaskan tanda-tanda (kebesaran-Nya) kepada orang-orang yang mengetahui (5).
Sesungguhnya pada pertukaran malam dan siang itu dan pada apa yang diciptakan Allah di langit dan di bumi, benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan-Nya) bagi orang-orang yang bertakwa (6).

Ayat ini masih merupakan lanjutan dari uraian tentang kuasa Allah swt. serta ilmu dan hikmah-Nya dalam mencipta, menguasai, dan mengatur alam raya. Ayat ini merupakan salah satu bukti keesaan Allah swt. dalam pemeliharaan-Nya terhadap

manusia. Penutup ayat ini mengisyaratkan bahwa perubahan-perubahan yang terjadi di alam raya ini seharusnya menyadarkan manusia bahwa ia tidak akan tetap dalam keadaannya, tetapi pasti berubah. Aneka perubahan terjadi, antara lain yang terlihat sehari-hari, seperti kematian, dan karena itu hendaklah setiap orang berhati-hati dan mempersiapkan diri dengan perubahan-perubahan itu (Shihab, 2002, 5: 334–335).

Allah swt. yang menciptakan langit dan bumi. Dia juga yang menjadikan matahari bersinar di waktu siang, dan bulan bercahaya di waktu malam, peristiwa malam dan siang, serta pergantian antar keduanya, ketika yang satu datang sesudah yang lain, juga pada panjang dan pendeknya siang dan malam sesuai dengan perbedaan posisi bumi terhadap matahari, dan pada aturan yang teliti dari malam dan siang ini, segala sesuatu dapat diatur dengan konsep yang sangat teratur.

B. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas

Hubungan skruktur dan sifat adalah pendefinisian empiris kualitatif dan kuantitatif antara skruktur dengan skruktur molekul dengan sifat yang teramati. Jika sifat digambarkan sebagai sebagai aktivitas biologis – misalnya aktivitas obat- maka dikenal sebagai hubungan kuantatif skruktur skruktur dan aktivitas, HKSA (Quantitatif Scructure-Activity relationship, QSAR) (Pranowo, 2011: 7).

Penemuan dan pengembangan obat memiliki pengaruh yang penting dalam perawatan kesehatan masyarakat sebagai kebutuhan akan obat baru yang lebih efektif. Melalui generasi perkembangan dan perbaikan, komputer menjadi komponen yang penting dalam kehidupan modern. Teknologi canggih mempercepat perkembangan baru di berbagai disiplin ilmu ilmiah. Salah satu contohnya adalah kimia komputasi. Penjelasan struktur dalam sintesis senyawa lebih efisien, dengan pendekatan komputasi untuk merancang molekul yang berinteraksi dengan cara tertentu dengan

molekul lain, terutama dalam desain obat, dan untuk mengidentifikasi pola hubungan antara struktur kimia dan aktivitasnya (Lindsey, 1992: 15).

Perhitungan simbolik dikerjakan jika sistem sangat besar untuk digambarkan sebagai atom peratom sesuai dengan tingkat pendekatan yang ditetapkan. Sebagai contoh, pemodelan membran sel dengan menggunakan skruktur lemak secara individual sebagai pengganti poligon dengan beberapa persamaan matematika yang mwakili energi interaksinya. Perlakuan simbolik banyak digunakan pada komputasi bidang biokimia dan mikrobiologi. (Pranowo, 2011: 8)

Walaupun hanya untuk molekul organik kecil seperti nonbornana, terdapat beberapa cara untuk menampilkan skrukturnya. Teknik visualisasi bergantung pada gambaran apa yang menjadi pusat kajian. visualisasi nonborna dapat dinyatakan dalam 2 dimensi dengan sisi yang mendatar pada cincin beranggota enam, beranggota 5 atau dengan digambarkan secara 3-dimensi (3-D) (Pranowo, 2011: 9).

Interaksi antar molekul ini sangat penting di bidang kimia komputasi karena pada sistem kimia sebenarnya, tidak pernah dijumpai adanya molekul yang sendiri tanpa molekul lain di sekelilingnya. Beberapa pernyataan seperti, apakah sifat sejumlah molekul yang sama berbeda dengan molekul tunggal? Apakah sifat molekul dipengaruhi oleh molekul yang ada di sekitarnya. Hal ini akan dapat diselesaikan dengan teknik simulasi komputer melalui penentuan akurat tentang model interaksi antar molekul. Intraksi antar molekul dapat berupa interaksi van der waals, ikatan hidrogen, coulombik maupun kelompok interaksi dipol-dipol (Pranowo, 2011: 8).

Interaksi obat dengan senyawa biologis ditentukan oleh gaya antarmolekul, seperti sifat hidrofobik, polar, elektrostatik, dan interaksi sterik. Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) memberikan model yang menggambarkan ketergantungan

struktural dengan aktivitas biologis baik melalui analisis Hansch, variabel indikator pengkodean fitur struktur yang berbeda (analisis Free Wilson), atau dengan profil molekul tiga dimensi dari senyawa (CoMFA) (Kubinyi, 1993: 1).

Tabel II.1 Daftar deskriptor (Hetadi, 2011: 106-107).

No.	Simbol pada software	Simbol umum	Deskriptor
1.	AM_1dipole	μ	Momen dipole
2.	AM1_E	E_{Tot}	Energi total
3.	AM1_Eele	E_{Ele}	Energi elektronik
4.	AM1_HOMO	E_{HOMO}	Energi HOMO
5.	AM1_LUMO	E_{LUMO}	Energi LUMO
6.	AM1_HF	HF	Pembentukan panas
7.	ASA_H	\AA	Luas permukaan hidrofobik
8.	ASA-P	p	Luas permukaan polar total
9.	Glob	Glob	Globularitas
10.	log P (o/w)	log P	Koefisien partisi
11.	log S	log S	Logaritma kelarutan dalam air
12.	Mr	MR	Refraktivitas molar
13.	VSA	VSA	Daerah permukaan van Der Waals
14.	Vdw-vol	Vdw-vol	Volume Van der waals (A^{**2})
15.	Vol	Vol	Volume Vander Waals

Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) adalah metode komputasi atau model matematik untuk menemukan korelasi signifikan secara statistik antara struktur dan fungsi menggunakan teknik kemometrik. Dari segi desain obat, struktur di sini merujuk pada sifat atau deskripsi dari molekul, substituen atau interaksi medan

energi, fungsi yang sesuai dengan suatu eksperimental biologi/biokimia seperti afinitas ikatan, aktivitas, toksisitas atau tingkat konstanta, sementara metode kemometrik seperti MLR (*multiple linear regression*), PLS (*partial least-square*), PCA (*principal component analysis*), PCR (*principal component regression*), ANN (*artificial neural networks*), GA (*genetic algorithms*), dan sebagainya. Berbagai pendekatan HKSA telah dikembangkan secara bertahap selama rentang waktu lebih dari seratus tahun dan berfungsi sebagai alat prediktif yang penting, khususnya dalam desain obat-obatan dan bahan kimia pertanian. Metode-metode telah berevolusi dari Hansch dan Free-Wilson dengan hubungan satu atau dua dimensi dengan energi bebas, dengan HKSA tiga dimensi oleh Crammer, dimensi keempat oleh Hopfinger, dan Vedani untuk dimensi kelima dan keenam. Semua metode satu dan dua dimensi serta metode-metode yang berhubungan semuanya mengacu pada metodologi HKSA klasik, dan telah dibahas secara singkat pada bagian-bagian selanjutnya. Terlepas dari jenisnya, semua formalisme HKSA menganggap bahwa setiap molekul yang termasuk dalam studi ini mengikat ke situs yang sama dari reseptor target yang sama. Namun, perbedaan utama antara semua formalisme ini berada pada masing-masing sifat struktural molekul yang dimiliki dan hubungan kuantitatif antara sifat dan aktivitas (Verma *et al*, 2010: 95).

Data biologis dari berbagai jenis telah digunakan dalam hubungan kuantitatif struktur-aktivitas; perlu dicatat bahwa (terutama pada parameter farmakokinetik) hanya tergantung pada nilai-nilai variasi struktur yang dianggap dalam konteks studi HKSA: data afinitas, seperti konstanta ikatan substrat atau reseptor, konstanta asosiasi atau disosiasi, konstanta Michealis Menten, konstanta inhibisi, terutama nilai K_i dan IC_{50} dari enzim yang berbeda, parameter farmakokinetik seperti konstanta

absorpsi, distribusi, klirens, degradasi metabolisme, dan eliminasi (Kubinyi, 1993: 15).

Kebanyakan semua metode HKSA fokus pada hal-hal berikut (Verma *et al*, 2010: 95):

- 1) Untuk menghubungkan secara kuantitatif dan rekapitulasi hubungan antara kecenderungan perubahan struktur kimia dan perubahan masing-masing di titik akhir biologis dalam memahami sifat kimia yang paling mungkin sebagai penentu dalam aktivitas biologis.
- 2) Untuk mengoptimalkan senyawa induk yang ada sehingga dapat meningkatkan aktivitas biologis.
- 3) Untuk memprediksi aktivitas biologis dari senyawa yang belum teruji dan biasanya belum tersedia.

HKSA menjadi alternatif yang berguna karena alasan berikut (Verma *et al*, 2010: 96):

- 1) Metode sintesis konvensional yang mahal dan memakan waktu yang lama.
- 2) Tes biologis juga terlalu mahal, sering membutuhkan waktu banyak, mengorbankan banyak hewan, ataupun senyawa dalam bentuk murninya.
- 3) Kegagalan obat karena profil ADMET yang kurang pada tahap akhir dari pengembangan (atau bahkan setelah dikomersilkan).
- 4) Senyawa yang dibutuhkan dalam jumlah besar.

Berdasarkan dimensinya, HKSA dikategorikan sesuai nilai-nilai deskriptornya, seperti: HKSA satu dimensi berhubungan dengan aktivitas molekul seperti pKa, log P dan sebagainya. HKSA dua dimensi berhubungan dengan aktivitas pola struktur seperti indeks konektivitas, farmakofor dua dimensi dan sebagainya,

tanpa memperhitungkan representasi sifat tiga dimensinya. HKSA tiga dimensi berhubungan dengan bidang interaksi non-kovalen yang mengelilingi molekul. HKSA empat dimensi menambahkan konfigurasi ligan dalam HKSA tiga dimensi. HKSA lima dimensi secara eksplisit berbeda dengan model HKSA empat dimensi. HKSA enam dimensi selanjutnya menggabungkan model solvasi yang berbeda dari HKSA lima dimensi (Verma *et al*, 2010: 96).

Berdasarkan metode kemometrik, kadang-kadang metode HKSA juga diklasifikasikan ke dalam dua kategori berikut, tergantung pada jenis teknik korelasi yang digunakan untuk membangun hubungan antara sifat struktural dan aktivitas biologis. Metode Linear termasuk regresi linier (LR), regresi linier ganda (MLR), parsial kuadrat-terkecil (PLS), dan analisis/regresi komponen utama (PCA/PCR). Metode non-linear yang terdiri dari jaringan saraf tiruan (JST), k-tetangga terdekat (kNN), dan jaring saraf Bayesian (Verma *et al*, 2010: 96).

Parameter fisika kimia dan parameter lain yang digunakan antara lain parameter lipofilisitas, yaitu koefisien partisi dan parameter kromatografi; parameter polaritas, yaitu bias molar, volume molar; parameter elektronik, yaitu konstanta Hammett σ , parameter resonansi, parameter yang dihasilkan dari data spektroskopik, momen dipol, dan parameter kimia kuantum; parameter sterik, yaitu hubungan energi bebas linear, atau pertimbangan geometri; parameter lain seperti bobot molekul, parameter geometri, konformasi entropi, indeks konektivitas, dan parameter topologikal lainnya (Kubinyi, 1993: 21).

1. Analisis Hansch

Analisis Hansch menghubungkan nilai aktivitas biologis dengan sifat fisika kimia secara linear, linear ganda, atau analisis regresi nonlinear. Semua parameter

yang digunakan dalam analisis Hansch ini adalah nilai yang berhubungan dengan energi bebas linear. Istilah “pendekatan hubungan energi bebas linear” atau “pendekatan ekstra termodinamik” merupakan sinonim dari analisis Hansch. Nilai aktivitas biologis didefinisikan sebagai nilai hubungan energi bebas linear (seperti konstanta ikatan atau inhibisi, konstanta absorpsi dan distribusi, atau kombinasinya). Hubungan nilai aktivitas biologis dengan lipofilisitas, seperti koefisien kelarutan atau partisi, hanya menjelaskan hubungan struktur-aktivitas nonspesifik. Hansch dan Fujita melakukan kombinasi berbagai parameter yang berbeda dalam satu persamaan, pada persamaan di bawah ini (C: konsentrasi molar yang memberikan efek biologis; σ : parameter elektronik; k_1 , k_2 , k_3 : koefisien yang ditentukan dari analisis regresi multi linear (*linear multiple regression analysis*))

$$\log 1/C = k_1 \log P + k_2 \sigma + k_3 ;$$

$$\log 1/C = k_1 (\log P)^2 + k_2 \log P + k_3 \sigma + k_4$$

Dalam tiga dekade terakhir semua kemungkinan kombinasi parameter lipofilisitas, polaritas, elektronik, dan sterik, dengan atau tanpa adanya variabel indikator, telah digunakan dan dihubungkan dengan nilai aktivitas biologis (Kubinyi, 1993: 57–58).

2. Analisis Free-Wilson

Pendekatan Free-Wilson merupakan model hubungan struktur-aktivitas sebenarnya. Variabel indikator yang digunakan untuk setiap fitur struktural dari senyawa, seperti angka 1, menyatakan adanya substituen, dan 0, tidak ada substituen, dihubungkan dengan nilai aktivitas biologis dengan analisis regresi multi linear. Koefisien hasil regresi dari variabel indikator adalah kontribusi aktivitas biologis dari adanya elemen-elemen pada struktur senyawa. “*Mathematical model*”, “*additivity*

model”, atau ”pendekatan *de novo*” adalah sinonim dari metode Free Wilson. Model persamaan Free Wilson tidak sederhana. Tidak ada senyawa dengan persamaan simetri yang dihasilkan dari persamaan linear antara variabel-variabel. Model Free Wilson mudah untuk digunakan, terutama pada fase analisis struktur-aktivitas yang menganalisis kontribusi substituen dengan kemungkinan sifat fisika kimianya. Namun, model Free Wilson juga memiliki kelemahan, pertama dan yang paling penting, variasi struktur dibutuhkan setidaknya pada dua posisi yang berbeda; sebaliknya, kontribusi gugus yang tidak berarti juga memberikan hasil, satu untuk setiap senyawa. Setiap substituen hanya memiliki satu data aktivitas. Prediksi untuk substituen yang tidak terdapat dalam senyawa untuk proses analisis tidak mungkin dilakukan, sehingga analisis Free Wilson terbatas dalam penggunaan hubungan struktur-aktivitas yang linear (Kubinyi, 1993: 62–65).

3. Analisis HKSA Tiga Dimensi (3D)

Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) tiga dimensi adalah istilah yang mencakup semua metode HKSA yang menghubungkan properti target makroskopik dengan hasil perhitungan deskriptor berdasarkan atom yang diwakili struktur molekul tiga dimensi. Metode HKSA tiga dimensi dapat diklasifikasikan dalam berbagai kriteria, salah satunya dengan metode analisis perbandingan molekul atau *Comparative Molecular Field Analysis* (CoMFA) (Verma *et al*, 2010: 98).

C. Penelusuran Farmakofor

Semua obat memiliki aktivitas farmakofor sebagai akibat adanya antaraksi stereoelektronik dengan suatu reseptor. Makromolekul reseptor mengenali susunan gugus fungsi tertentu dalam ruang trimatra serta kerapatan elektronnya. Ini merupakan pengenalan gugus tersebut, dan bukan pengenalan struktur molekul obat

keseluruhan, yang mengakibatkan suatu antaraksi. Antaraksi ini biasanya berupa pengikatan non kovalen. Kumpulan gugus terkait yang mengakibatkan suatu efek disebut farmakofor, susunan geometrinya disebut pola farmakofor, sedangkan letak struktur pelengkap pada reseptor disebut peta reseptor (Nogady, 1992: 556-557).

Farmakofor menggunakan konsep bioisoterisme dengan tidak hanya membandingkan kemiripan topologi tapi juga gugus struktur pada daerah yang sama dengan fungsi kimia yang sama. Sangat penting untuk fokus pada *feature* farmakofor karena sifat molekul topologi sering membingungkan pada superposisi dari dua molekul dengan respek pada mode pengikatannya. Untuk dua ligan yang ditampilkan *overlay* topologi akan menghasilkan prediksi yang salah pada metode pengikatan. Jika *feature* farmakofor diperhitungkan untuk superimposisi mode *overlay* yang benar dapat disimpulkan. Farmakofor yang berdasarkan superimposisi yang sama pada mode pengikatan diamatai pada struktur Kristal methotreksat dan dihidrofolat dengan dihidrofolatreduktase (Wermuth, 2008: 574).

Farmakofor modeling pada desain obat dengan bantuan komputer umumnya digunakan pada tiga domain. Yang pertama merupakan definisi terhadap *feature* farmakofor yang bersangkutan pada molekul obat yang diperlukan untuk memperoleh efek biologis tertentu dan untuk membangun HAS yang jelas. Model farmakofor yang dikembangkan dengan baik, lebih cenderung pada informasi tentang dimensi pada rongga pengikatan reseptor, dapat digunakan untuk mendesain senyawa baru dan molekul yang lebih aktif yang cocok dengan model. Seringnya, model farmakofor seperti ini merupakan titik awal untuk analisis 3D-HKSA, sebagai contoh: CoMFA, dengan prediksi kuantitatif dapat dibuat. Yang kedua adalah loncatan rangka, yang mendeteksi molekul dengan rangka yang berbeda (*chemotypes*

yang baru) dengan *virtual screening* kumpulan senyawa yang besar. Yang terakhir adalah menggunakan *screening* parallel berbasis farmakofor untuk memprediksi profil farmakologi untuk untuk struktur induk *in silico*. Dengan menggunakan *fingerprints* farmakofor, diharapkan untuk memprediksi efek samping yang tidak diinginkan pada tahap yang paling awal pada proses penemuan obat dan oleh karena itu, mengurangi resiko kegagalan kandidat obat (Wermuth, 2008: 574).

Metode-metode yang digunakan dalam studi farmakofor yaitu (Nogady, 1992: 557):

1. Pengubah-sesuaian struktur

Pengubah-suaian struktur yang klasik sejak dini merupakan yang utama pada sintesis obat. Seperti ditekankan terdahulu pada beberapa butir bahasan, perubahan struktur menurut istilah kimia organik hanyalah merupakan lambang untuk perubahan sifat fisikokimia berbagai struktur.

Ada empat langkah pengembangan model farmakofor adalah (1) pemilihan sekumpulan ligan aktif yang diketahui untuk terikat pada target yang sama (daerah pengikatan yang sama), (2) analisis konformasi untuk mengembangkan farmakofor otomatis menggunakan model farmakofor kualitatif yang tidak memperhitungkan aktivitas ligan. Tujuan yang paling utama dari semua program ini adalah untuk mencari konformasi yang unik dari semua *congener*, dimana kebanyakan tidak digunakan *feature* farmakofor ligan yang terdapat pada superimpose. Kebanyakan program berdasarkan pada meminimalkan kesalahan superposisi *root-mean-square* (RMS) antara konformasi ligan yang diteliti sementara mencoba untuk meningkatkan *feature* farmakofor yang molekul aktif yang digunakan, prosedur superposisi dibutuhkan. Tugas *feature* farmakofor dan generasi

ligan yang disejajarkan menggunakan cara otomatis dengan kebanyakan program modeling farmakofor (contoh: Catalyst, DISCO, Galahad, LiganScout, Phase, MOE PHP) (Wermuth, 2008: 575).

2. Perubahan fisikokimia

Perubahan sifat fisikokimia pada suatu deret obat tentu saja terjadi sebagai akibat pengubah-suaian struktur: sudut pandangan kitalah yang berubah. Agak sukar mengubah hanya satu parameter dengan suatu pengubah-suaian struktur tertentu yang mungkin dikecualikan adalah kelipofilan, karena kelipofilan meningkat dengan penambahan gugus hidrokarbon lemak. Tingkat kelipofilan-amat penting dalam penelitian kerja obat dan HAS kuantitatif-berubah bersama-sama dengan tetapan Hammett σ (petunjuk tentang kemampuan suatu substituen, apakah ia pemberi atau penerima elektron). Pada saat merencanakan suatu deret obat, dapat diperoleh keragaman maksimum dengan memilih substituen dari masing-masing kuadran rajah dengan mengamati kecenderungan aktivitas secara umum, bila hanya parameter σ atau berguna pada metode korelasi HAS tanpa komputer seperti skema Topliss (Nogardy, 1992: 562-563).

a. Peragaman isosterik

Penggantian atom atau gugus isosterik pada suatu molekul banyak dilakukan dalam perancangan antimetabolit atau obat yang mengubah proses metabolik. Gugus isosterik, menurut definisi Erlenmeyer, adalah gugus yang kulit elektron terluarnya isoelektronik. Akan tetapi, karena ukuran dan polaritasnya dapat beragam, istilah isoster agak keliru. Isoster dikelompokkan berdasarkan valensinya (yaitu jumlah elektron pada kulit terluar) (Nogardy, 1992: 563):

Kelompok I : halogen; OH; SH; NH₂; CH₃

Kelompok II : O, S, Se, Te; NH; CH₂

Kelompok III: N, P, As, CH

Kelompok IV: C, Si, N⁺, P⁺, S⁺, As⁺

Kelompok V : -CH = CH-, S, O, NH (pada cincin)

Contoh paling tua tentang pemakaian isosterik nonklasik adalah penggantian karboksamida pada asam folat oleh sulfonamide, menghasilkan obat golongan sulfanilamide. Konsep isosterik nonklasik atau bioisoter ini bagian yang tidak mempunyai jumlah atom yang sama atau struktur elektron yang serupa betul-betul merupakan pendekatan pengubahan struktur klasik (Nogrady, 1992: 563)

b. Peragaman konformasi

Peragaman konformasi dalam molekul obat sulit ditelaah (dibandingkan dengan Martin. 1978. h. 364-6). Bila 'konformasi yang lebih disenangi' diyakini merupakan konsep yang berguna, dianggapilah bahwa analog-obat-lentur yang kaku dapat menentukan konformer yang mana (diantara berbagai kemungkinan) yang 'cocok' dengan reseptor. Disamping kenyataan bahwa analog kaku sering disintesis, analog ini dapat terikat dengan arah yang berbeda dari senyawa induknya yang lentur; lagi pula dalam hal kecocokan terimbas, mungkin dibutuhkan kelenturan agar obat terikat dengan baik. Nampaknya ada kemungkinan untuk menghitung energi konformasi nisbi berbagai molekul dari gaya sterik, gaya pelarutan, gaya pelintiran dan gaya pengikatan-H. Keragaman konsep ini masih perlu ditinjau, tetapi kemajuan akhir-akhir ini dalam grafik komputer antaraksi memungkinkan telaah berbagai model serta pengotakan konformasi pada penggambaran trimatra, yang memungkinkan pemangkasan

berbagai senyawa agar sesuai dengan reseptor tertentu yang telah diketahui (Nogrody, 1992: 565)

D. *Virtual Screening*

Virtual screening didefinisikan sebagai proses evaluasi secara otomatis terhadap kumpulan data senyawa yang sangat besar menggunakan bantuan program komputer. Tujuan dari *Virtual screening* adalah untuk menemukan dan mengidentifikasi senyawa yang baru (novel) dan mempunyai aktivitas poten terhadap target yang dituju. Oleh karena itu, salah satu keberhasilan *Virtual screening* ditunjukkan dengan ditemukannya senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang baru dan menarik. *Hit rate* yang rendah yang terdiri atas senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang baru dan menarik lebih disukai daripada *hit rate* yang tinggi tetapi berisi senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang telah diketahui (Mohan, 2005: 320).

Virtual screening berusaha merasionalkan pemilihan senyawa hingga seminimal mungkin kandidat untuk evaluasi eksperimen. *Virtual screening* telah menjadi pembangun disiplin ilmu komputasi pada penelitian farmasetik. Pengembangan dan penggunaan metode komputasi untuk menelusuri berjuta-juta senyawa *virtual* dan memprioritaskan sejumlah kecil kandidat untuk diujikan juga menarik dari sudut pandang akademik. Oleh karena itu, terdapat ketertarikan pada metode *virtual screening*, diantaranya (Abraham, 2003: 243).

1. *Screening In silico* berbasis ligan

Terdapat beragam metode *virtual screening* berbasis ligan. Berdasarkan tingkat kecanggihan, biaya komputasi utama, semua tergantung pada jenis informasi struktural yang digunakan. Pada semua kasus, umumnya diperoleh pengayaan

signifikan pada pilihan acak dari molekul dalam *database*. Setelah prosedur pencarian, molekul dengan skor tertinggi dapat diprioritaskan untuk pengujian eksperimental. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pencarian kesamaan memiliki sisi yang lebih murah dan lebih sesuai, semua molekul dalam *database* dapat di *scoring* melalui persamaan dengan satu atau beberapa ligan bioaktif dan kemudian dirangking untuk menampilkan probabilitas penurunan dari bentuk aktif. Salah satu pendekatan yang paling sukses dalam hal ini adalah penggunaan *self-organizing* jaringan neural yang dapat menghasilkan proyeksi data set besar yang digambarkan dalam ruang dimensi tinggi. Hasil pemetaan *self-organizing* dapat digunakan dalam banyak aplikasi dalam proses penemuan obat, seperti untuk menganalisis perpustakaan kombinatorial untuk kesamaan dan keragamannya dan untuk memilih deskriptor hubungan struktur-aktivitas. Teckrentup *et al* telah menggunakan metode ini untuk menganalisis satu set dari 5513 senyawa yang mengandung 185 *hit* yang teridentifikasi (*hit rate* 3.4%) (Abraham, 2003: 243-244).

2. Screening *In silico* berbasis struktur

Virtual screening berbasis struktur dari molekul 3D telah berhasil diterapkan untuk menemukan *hit* baru dalam desain berbasis struktur. Krier *et. al* telah mengoptimasi inhibitor phosphodiesterase 4 menggunakan *docking* molekul dari perpustakaan kombinatorial. Barecca *et. al* menggunakan generasi farmakofor 3D berbasis struktur dan *searching database* multi konformasional bersama dengan *docking* molekul. Rollinger *et. al*, menggunakan pendekatan yang sama untuk menemukan inhibitor asetilkolin esterase dari *database* 3D senyawa alami. Wang dan rekan telah menemukan sebuah inhibitor transporter dopamine yang baru dan memiliki potensi melalui *searching farmakofor 3D database* dan modifikasi

subsequent senyawa kimia sebagaimana inhibitor pada *Tritrichomonas Fetus Hypoxanthine-Guaninexanthine Phosphoribosyltransferase* (HGXPRT) (Abraham, 2003: 243)

E. Docking Molekul

Secara umum, *docking* molekul adalah penggunaan komputerisasi dalam memasang suatu molekul kecil pada reseptor (bagian ini sering didefinisikan sebagai sisi aktif dari enzim) melalui representasi yang dihasilkan komputerisasi, yang diikuti oleh evaluasi struktur molekul dalam hal ini yaitu bentuk dan karakteristiknya seperti parameter elektrostatik. Subyek *docking* adalah pembentukan kompleks protein-ligan non kovalen. Suatu molekul dengan struktur yang baik mengindikasikan bahwa molekul tersebut potensial sebagai ligan pengikat yang baik. Hasil dari *docking* secara umum meliputi prediksi afinitas molekul, termasuk ranking dari senyawa yang di-*docking* berdasarkan pada afinitasnya. Pemodelan interaksi intermolekular kompleks ligand-protein tidaklah mudah karena berbagai derajat kebebasan dan kebatasan komputasi efek pelarut pada ikatan asosiasi (Gao *et al*, 2007: 90; Abraham, 2003: 289; Nadendla, 2004: 51–60).

Jika afinitas molekul pada reseptor dapat diprediksi dengan akurasi yang baik maka akan diperoleh berbagai keuntungan dari pendekatan ini. Salah satunya adalah kemampuan untuk melakukan *docking* dan skoring molekul dalam jumlah yang besar dalam waktu yang cukup singkat. Hanya senyawa dengan prediksi afinitas terbaik yang kemudian akan dipilih untuk disintesis dan/atau diujicobakan. Beberapa hal yang menjadi tantangan yang dihadapi dengan menggunakan program *docking* adalah untuk memprediksi model pengikatan (*binding mode*) yang benar dari molekul (dalam hal ini prediksi posisi yang berkaitan dengan orientasi dan konformasi

molekul pada sisi pengikatan reseptor) dan untuk memprediksikan afinitas pengikatan dari senyawa (untuk menghasilkan rangking relatif dari sejumlah senyawa) dengan kepercayaan tinggi (Gao *et al*, 2007: 90).

Pengikatan selektif molekul kecil ligan pada protein spesifik ditentukan dengan faktor struktur dan energi. Untuk ligan yang terkait dengan farmasi, ikatan ligan-protein biasanya timbul melalui interaksi non kovalen. Secara termodinamika, kekuatan interaksi antara protein dan ligan digambarkan dengan afinitas pengikatan atau energi bebas pengikatan (Gibbs). Berdasarkan persamaan Gibbs-Helmholtz, energi bebas pengikatan terdiri atas kontribusi entalpi dan entropi (Abraham DJ, 2003: 51–60).

Beberapa jenis docking molekul berdasarkan sifat ligan dan reseptornya, yaitu (Mohan, 2005: 323–333):

1. *rigid body docking*, dimana reseptor dan ligan keduanya diperlakukan kaku,
2. *flexible ligand docking*, dimana reseptor diperlakukan kaku dan ligan dapat digerakkan ke segala arah,
3. *flexible docking*, dimana fleksibilitas reseptor dan ligan dibuat fleksibel.

Pada umumnya prosedur *docking* yang paling umum dipergunakan adalah model *flexible ligand docking* (Mohan, 2005: 323–333).

Fungsi skoring dapat dikategorikan dalam tiga kategori, yaitu (Mohan, 2005: 323 - 333):

1. *knowledge-based*, berdasarkan fungsi statistik untuk memasukkan aturan yang dianjurkan dan tidak dianjurkan, interaksi pasangan atom dari eksperimen penentuan kompleks protein-ligan,

2. *empirical-based*, menjumlahkan interaksi entalpi dan entropi dengan bobot relatif berdasarkan pengaturan kompleks protein-ligan,
3. *forcefield-based*, fungsi ini hampir menyerupai *scoring* empirik dengan memprediksikan energi bebas pengikatan dari kompleks protein-ligan dengan penambahan kontribusi individual dari berbagai tipe interaksi.

F. *Prediksi In Silico dari Sifat ADME/T*

Kebanyakan penelitian tentang ADME/T dimulai dengan menyoroti kontribusi dari sifat-sifat ini pada tingkat kegagalan penemuan obat dan resultan biaya pemasangan yang membawa obat baru ke pasar. Sementara itu, jumlah obat yang dipasarkan yang ditarik kembali semakin meningkat, utamanya karena isu ADME/T yang tidak dapat dideteksi sebelumnya. Saat ini, banyak solusi diusulkan untuk mengidentifikasi dan mengalamatkan isu ini sebelum senyawa penuntun lain mencapai tingkatan klinik. Diantara mereka, peran awal sifat ADME/T dengan in silico telah luas diapresiasi. Biotransformation metabolik dari senyawa kimia baru dari kemenarikan yang tinggi karena sangat mempengaruhi bioavailabilitas, aktivitas, dan profil toksisitas (Mingyue Zheng *et al*, 2013: 549-554).

G. *Kanker Payudara*

Kanker atau karsinoma (yun.Karkinos= kepiting) adalah pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas (maligne). Suatu kelompok sel dengan mendadak menjadi liar dan memperbanyak diri secara pesat dan terus menerus (proliferasi). (Tjay dan Rahardja, 2010: 208).

Kanker merupakan kelompok penyakit yang menyebabkan sel-sel dalam tubuh berubah, ditandai dengan kelainan siklus sel, yaitu pembelahan yang tidak terkendali. Pada tahun 2013 dilaporkan perkiraan jumlah kasus baru kanker payudara

di Amerika Serikat yang menyerang pria sebanyak 2.240 kasus dan pada wanita 232.340 kasus, sedangkan kasus kanker payudara yang menyebabkan kematian pada pria sebanyak 410 dan wanita 39.620 kasus. Kanker payudara berada di peringkat pertama sebagai perkiraan kasus baru terbanyak yang terjadi pada wanita, yaitu 29%, dan berada di peringkat kedua sebagai kasus kanker penyebab kematian pada wanita, yaitu 15%. Kanker adalah suatu kondisi dimana sel telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normalnya, sehingga mengalami pertumbuhan yang tidak normal, cepat dan tidak terkendali. Selain itu, kanker payudara (carcinoma mammae) didefinisikan sebagai suatu penyakit neoplasma yang ganas yang berasal dari parenchyma. Penyakit ini oleh World Health Organization (WHO) dimasukkan ke dalam International Classification of diseases (ICD) dengan kode nomor 17 (Maysaroh, 2013: 16).

Kanker adalah kelompok penyakit yang menyebabkan sel-sel dalam tubuh berubah dan tumbuh di luar kendali (American Cancer Society, 2013: 1). Kanker adalah penyakit di mana pengendalian pertumbuhan hilang dalam satu atau lebih sel, mengarah ke massa padat (*solid mass*) sel yang dikenal sebagai tumor (Thurston, 2007: 1). Kualitas hidup yang dihubungkan dengan kesehatan sekarang menjadi titik yang sangat penting dalam uji klinis kanker. Beberapa studi pada pasien kanker, kasus kanker payudara banyak mendapat perhatian untuk berbagai alasan. Pertama, jumlah wanita dengan kanker payudara meningkat. Telah dilaporkan bahwa setiap tahun lebih dari 1,1 juta wanita di seluruh dunia didiagnosa dengan kanker payudara dan 410.000 meninggal. Kedua, deteksi dini dan pengobatan kanker payudara terus ditingkatkan. Ketiga, kanker payudara mempengaruhi identitas wanita, karena berhubungan dengan organ vital (Montazeri, 2008: 2).

Kanker umumnya diberi nama sesuai dengan jenis jaringan tempat munculnya. Sebagai contoh, istilah sarkoma menggambarkan tumor yang timbul dari jaringan mesodermal, yang meliputi jaringan ikat, tulang, tulang rawan, lemak, otot, dan pembuluh darah. Osteosarkoma mengacu pada kanker tulang, dan karsinoma mengacu pada tumor jaringan epitel seperti selaput lendir dan kelenjar (termasuk kanker payudara, ovarium, dan paru-paru). Kanker sel sumsum tulang yang disebut sebagai mieloma dan multiple mieloma (yang paling umum kanker sumsum tulang) (Thurston, 2007: 2).

Telah lama diakui bahwa tumor yang berasal dari jaringan bergantung pada hormon, seperti payudara, endometrium, dan testis, bergantung pada hormon yang sama. Respon tumor dan efek samping yang beracun harus selalu dimonitor dan perubahan pengobatan jika terjadi perkembangan (Thurston, 2007: 127).

Kanker payudara adalah kanker pada jaringan payudara. Ini adalah jenis kanker paling umum yang diderita kaum wanita. Kaum pria juga dapat terserang kanker payudara, walaupun kemungkinannya lebih kecil dari 1 di antara 1000. Pengobatan yang paling lazim adalah dengan pembedahan dan jika perlu dilanjutkan dengan kemoterapi maupun radiasi (Maysaroh, 2013: 16)

Kanker payudara adalah penyakit heterogen yang mencakup beberapa entitas (*distinct entities*) dengan karakteristik biologis dan klinis yang sangat berbeda. Kanker payudara umumnya didiagnosis berdasarkan ada atau tidak adanya tiga reseptor: reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR), reseptor faktor pertumbuhan epidermal manusia-2 (HER-2). Sebagian besar (lebih dari 60%) dari pasien kanker payudara positif terhadap ER, PR, dan HER-2. Namun, ada sekitar 15% dari semua jenis kanker payudara pada wanita yang tidak positif terhadap ketiga

reseptor ini, dan disebut sebagai kanker payudara *triple-negative* (Chen and Russo, 2009: 162–163).

1. Klasifikasi Kanker Payudara

Sistem tumor – nodus – metastasis (TNM) pertama kali dikembangkan oleh Pieere Denoix pada tahun 1942, dan dipublikasikan untuk mengklasifikasikan kanker berdasarkan pada morfologi tumor yang akan menentukan prognosis , ukuran dari tumor primer (T),ada atau tidkanya keterlibatan kelenjar limfe (N), dan adanya metastasis (M). Stadium klinis berdasarkan klasifikasi TNM Kanker payudara berdasarkan AJCC Cancer Staging Manual (Rasjidi, 2009: 64-67):

a. Stage 0

Tahap sel kanker payudara tetap didalam kelenjar payudara, tanpa invasi ke dalam jaringan payudara normal yang berdekatan.

b. Stage 1

Adalah 2 cm atau kurang dan batas yang jelas (kelenjar getah bening normal).

c. Stage II A

Tumor tidak ditemukan pada payudara tapi sel – sel kanker ditemukan di kelenjar getah bening ketiak, atau tumor engan ukuran 2 cm dan telah menyebar ke kelenjar getah bening ketiak/ aksiller, atau tumor yang lebih besar dari 2tapi tidak lebih besar dari 5 m dan belum menyebar ke kelnjar getah bening ketiak.

d. Stage III A

Tidak ditemukan tumor di paudara.kanker ditemukan dikelnjar getah bening ketiak yang melekat bersama atau dengan struktur lainnya, atau kanker ditemukan di kelenjar getah bening didekat tulang dada, atau tumor dengan ukuran berapa pun dimana kanker telah menyebar ke kelenjar getah benig ketiak, terjadi peletakan

dengan struktur lainnya atau kanker ditemukan di kelenjar getah bening di dekat tulang dada.

e. Stage III B

Tumor dengan ukuran tertentu dan telah menyebar ke dinding dada dan./atau kulit payudara dan mungkin telah menyebar ke kelenjar getah bening ketiak yang berdekatan dengan struktur lainnya, atau kanker mungkin telah menyebar ke kelenjar getah bening di dekat tulang dada.

f. Stage III C

Ada atau tidak tanda kanker di payudara atau mungkin telah menyebar ke dinding dada atau kulit payudara dan kanker telah menyebar ke kelenjar getah bening baik di atas atau di bawah tulang belakang dan kanker mungkin telah menyebar ke kelenjar getah bening di dekat tulang dada.

g. Stage IV

Kanker telah menyebar atau metastase ke bagian lain dari tubuh.

2. Jenis-Jenis Kanker Payudara

Jenis kanker payudara yang umum terjadi yaitu (Mulyani dan Nuryani, 2013: 31-32):

a. Lobular Carcinoma In Situ (LCIS)

Pada LCIS pertumbuhan jumlah sel jelas terlihat berada dalam kelenjar susu (lobules). Pasien dengan LCIS dimonitor dengan ketat setiap empat bulan sekali oleh dokter dengan melakukan pemeriksaan klinis payudara. Ditambah mammografi setiap tahunnya. Adapun pencegahan lain yang juga mungkin dilakukan dengan memberikan terapi obat seperti tamoxifen atau prophylactic mastectomy, pengangkatan payudara yang dilakukan sebagai usaha preventif.

b. Ductal Carcinoma In Situ (DCIS)

DCIS merupakan tipe kanker payudara non-invasif yang paling sering terjadi. Dengan deteksi dini rerata tingkat bertahan hidup penderita DCIS mencapai 100% dengan catatan kanker tersebut tidak menyebar dari saluran susu ke jaringan lemak payudara serta bagian lain dari tubuh. DCIS mempunyai beberapa tipe antara lain, ductal comedocarcinoma yang merujuk pada DCIS dengan nekrosis/area sel kanker yang mati atau mengalami degenerasi sebagai microcalcifications (tumpukan kalsium dalam jumlah kecil).

c. Infiltrating Lobular Carcinoma (ILC)

Dikenal sebagai invasive lobular carcinoma. ILC terjadi sekitar 10% sampai 15% dari seluruh kejadian kanker payudara. ILC ini mulai terjadi dalam kelenjar susu (lobules) payudara, tetapi sering menyerang ke bagian tubuh lain.

d. Infiltrating Ductal Carcinoma (IDC)

Dikenal sebagai invasive ductal carcinoma. IDC merupakan tipe kanker payudara yang paling umum terjadi, sekitar 80% kasus IDC dari seluruh diagnosis kanker payudara. IDC terjadi dalam saluran susu payudara serta menjebol dinding saluran, menyerang jaringan lemak payudara hingga kemungkinan terjadi pada bagian tubuh yang lain.



Gambar II.1. penyebaran kanker payudara (Mansjoer. 2000: 283).

3. Etiologi

Kanker payudara belum diketahui secara pasti penyebabnya, namun ada beberapa factor kemungkinan, antara lain (Mulyani dan nuryani, 2013: 39-41):

a. Faktor usia

Semakin tua usia seorang wanita, maka risiko ntuk menderita kanker payudara akan semakin tinggi, pada usia 50-69 tahun adalah kategori usia paling beresiko terkena kanker payudara, terutama bagi mereka yang mengalami menopause terlambat.

b. Faktor genetik

Ada dua jenis gen BRCA 1 dan BRCA 2 yang sangat mungkin menjadi resiko pencetus kanker payudara. Bila ibu, saudara wanita mengidap kanker payudara maka ada kemungkinan untuk memiliki risiko terkena kanker payudara dua kali lipat dibandingkan wanita lain yang tidak mempunyai riwayat keluarga yang terkena kanker payudara.

c. Penggunaan hormon estrogen

Penggunaan hormon estrogen (misalnya pada penggunaan terapi estrogenreplacement), penggunaan terapi estrogen replacement mempunyai peningkatan risiko yang signifikan untuk mengidap penyakit kanker payudara.

d. Gaya hidup yang tidak sehat

Jarang berolahraga atau kurang gerak, pola makan yang tidak sehat dan tidak teratur, merokok serta mengkonsumsi alkohol akan meningkatkan resiko kanker payudara.

e. Perokok pasif

Merupakan orang yang tidak merokok tetapi orang yang tidak sengaja menghisap asap rokok yang dikeluarkan oleh orang perokok sring kali didengar perokok pasif terkena risiko dari bahaya asap rokok dibanding perokok aktif. Menurut ahli dari Caloformia Enviromental protection agency Perokok pasif memiliki hubungan erat dengan resiko terserang penyakit kanker payudara Oleh karena itu, jangan menjadi perokok pasif dan jangan menjadi perokok aktif, hindarilah orang-orang yang merokok di sekitar Anda agar tidak menjadi perokok pasif.

f. Penggunaan kosmetik

Bahan-bahan kosmetik yang bersifat seperti hormon estrogen beresiko menyebabkan peningkatan risiko mengalami penyakit kanker payudara, sehingga berhati-hati dalam penggunaan alat kosmetik.

g. Penggunaan Pil KB

Penggunaan pil KB pada waktu yang lama dapat meningkatkan wanita terkena resiko kanker payudara karena sel-sel yang sensitif terhadap rangsangan hormonal mungkin mengalami perubahan degenerasi jinak atau menjadi ganas dan risiko ini akan menurun secara otomatis bila penggunaan pil KB berhenti.

Salah satu faktor yang diduga dapat menyebabkan terjadinya kanker payudara adalah tidak menyusui. Hal tersebut terutama bagi perempuan yang sudah melahirkan. Padahal dalam Al-Quran telah dijelaskan mengenai hendaknya seorang wanita (seorang ibu) menyusui pada anaknya sesuai firman Allah swt. dalam QS. Al-Baqarah/2: 233.

وَالْوَالِدَاتُ يُرْضِعْنَ أَوْلَدَهُنَّ حَوْلَيْنِ كَامِلَيْنِ لِمَنْ أَرَادَ أَنْ يُتِمَّ الرَّضَاعَةَ وَعَلَى الْمَوْلُودِ
 لَهُ رِزْقُهُنَّ وَكِسْوَتُهُنَّ بِالْمَعْرُوفِ لَا تُكَلَّفُ نَفْسٌ إِلَّا وُسْعَهَا لَا تُضَارَّ وَالِدَةٌ بِوَلَدِهَا وَلَا
 مَوْلُودٌ لَهُ بِوَلَدِهِ وَعَلَى الْوَارِثِ مِثْلُ ذَلِكَ فَإِنْ أَرَادَا فِصَالًا عَنْ تَرَاضٍ مِّنْهُمَا
 وَتَشَاوُرٍ فَلَا جُنَاحَ عَلَيْهِمَا وَإِنْ أَرَدْتُمْ أَنْ تَسْتَزِعُوا أَوْلَادَكُمْ فَلَا جُنَاحَ عَلَيْكُمْ إِذَا
 سَلَّمْتُمْ مَا آتَيْتُم بِالْمَعْرُوفِ وَاتَّقُوا اللَّهَ وَاعْلَمُوا أَنَّ اللَّهَ بِمَا تَعْمَلُونَ بَصِيرٌ ﴿٣١﴾

Terjemahnya:

Para ibu hendaklah menyusukan anak-anaknya selama dua tahun penuh, Yaitu bagi yang ingin menyempurnakan penyusuan. dan kewajiban ayah memberi Makan dan pakaian kepada Para ibu dengan cara ma'ruf. seseorang tidak dibebani melainkan menurut kadar kesanggupannya. janganlah seorang ibu menderita kesengsaraan karena anaknya dan seorang ayah karena anaknya, dan warispun berkewajiban demikian. apabila keduanya ingin menyapih (sebelum dua tahun) dengan kerelaan keduanya dan permusyawaratan, Maka tidak ada dosa atas keduanya. dan jika kamu ingin anakmu disusukan oleh orang lain, Maka tidak ada dosa bagimu apabila kamu memberikan pembayaran menurut yang patut. bertakwalah kamu kepada Allah dan ketahuilah bahwa Allah Maha melihat apa yang kamu kerjakan.

Pada ayat tersebut dijelaskan tentang para ibu menyusukan, maksudnya hendaklah menyusukan (anak-anak mereka selama dua tahun penuh) sifat yang memperkuat, (yaitu bagi orang yang ingin menyempurnakan penyusuan) dan tidak perlu ditambah lagi. (Dan kewajiban yang diberi anak), maksudnya bapak (memberi mereka (para ibu) sandang pangan) sebagai imbalan menyusukan itu, yakni jika mereka diceraikan (secara makruf), artinya menurut kesanggupannya. (Setiap diri itu tidak dibebani kecuali menurut kadar kemampuannya, maksudnya kesanggupannya. (Tidak boleh seorang ibu itu menderita kesengsaraan disebabkan anaknya) misalnya dipaksa menyusukan padahal ia keberatan (dan tidak pula seorang ayah karena

anaknya), misalnya diberi beban di atas kemampuannya. Mengidhfatkan anak kepada masing-masing ibu dan bapak pada kedua tempat tersebut ialah untuk mengimbau keprihatinan dan kesantunan, (dan ahli waris pun) ahli waris dari bapaknya, yaitu anak yang masih bayi dan di sini ditujukan kepada wali yang mengatur hartanya (berkewajiban seperti demikian), artinya seperti kewajiban bapaknya memberi ibunya sandang pangan. (Apabila keduanya ingin), maksudnya ibu bapaknya (menyapih) sebelum masa dua tahun dan timbul (dari kerelaan) atau persetujuan (keduanya dan hasil musyawarah) untuk mendapatkan kemaslahatan si bayi, (maka keduanya tidaklah berdosa) atas demikian itu. (Dan jika kamu ingin) ditujukan kepada pihak bapak (anakmu disusukan oleh orang lain) dan bukan oleh ibunya, (maka tidaklah kamu berdosa) dalam hal itu (jika kamu menyerahkan) kepada orang yang menyusukan (pembayaran upahnya) atau upah yang hendak kamu bayarkan (menurut yang patut) secara baik-baik dan dengan kerelaan hati. (Dan bertakwalah kamu kepada Allah dan ketahuilah bahwa Allah Maha Melihat apa yang kamu kerjakan) hingga tiada satu pun yang tersembunyi bagi-Nya (Hidayat, 2010: 23).

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan Inggris yang dilansir oleh BBC mengemukakan bahwa mengisap payudara dapat menurunkan resiko terkena kanker payudara. Jika dihubungkan dengan pengisapan payudara saat ibu menyusui bayinya, hal tersebut mungkin benar. Menyusui merupakan proses alami namun efektif untuk menekan kadar estrogen. Berdasarkan penelitian, seorang perempuan yang menyusui bayi lebih dari satu tahun, resiko terserang penyakit kanker payudara berkurang sampai 59% dibanding yang tidak menyusui bayi, meskipun keluarganya memiliki sejarah menderita kanker payudara (Depkes RI, 2008: 6).

4. Sifat Serangan

Kanker payudara berdasarkan sifat serangannya terbagi menjadi dua yaitu (Mulyani dan Nuryani, 2013: 29):

a. Kanker payudara invasif

Pada kanker payudara invasif, sel kanker merusak saluran serta dinding kelenjar susu, menyerang lemak dan jaringan konektif di sekitarnya. Kanker dapat bersifat invasif/meyerang tanpa selalu meyebar (metastatic) ke simpul limfe atau organ lain dalam tubuh.

b. Kanker payudara non-invasif

Sel kanker terkunci pada saluran susu dan tidak menyerang lemak serta jaringan konektif disekitarnya. DCIS/Ductal Carcinoma In Situ merupakan bentuk kanker payudara non-invasif yang paling umum terjadi sedangkan LICS/ Lobular Carcinoma On Situ lebih jarang terjadi justru lebih diwaspadai karena meryapkan tanda meningkatnya risiko kanker payudara. Mengenali ganas dan tidaknya kanker payudara bisa dilihat dari penampilan fisik dan keras lunaknya benjolan. Cepat dan lambatnya proses kembuhan juga tergantung dari ganas dan tidaknya kanker lalu kedisiplinan pasien menaati pantangan makanan yang berlemak, dibakar, digoreng berulang-ulang dan minuman yang beralkohol. (Harmanto, 2006 : 62).

5. Faktor Resiko

Tidak seperti kanker lehet Rahim yang daapt diketahui etiologi dan perjalanan penyakitnya secara jelas, penyakit kanker payudara belum dapat dijelaskan. Akan tetapi, banyak penelitian menunjukkan adanya beberapa factor yang berhubungan dengan peningkatan risiko atau kemungkinan terjadinya kanker payudara. Factor resiko yang utama berhubungan engan keadaan hormonal (estrogen dominan) dan

genetic. Penyebab terjadinya keadaan estrogen dominan karena beberapa factor risiko dibawah ini dan dapat digolongkan berdasarkan (Rasjidi, 2009: 54 – 55):

a. Faktor yang berhubungan dengan diet:

Faktor risiko ini dapat dibagi dua, yaitu factor risiko yang memperberat terjadinya kanker dan yang mengurangi terjadinya kanker. Beberapa factor yang memperberat seperti :

- 1) Peningkatan berat badan yang bermakna pada saat pasca menopause
- 2) Diet ala barat yang tinggi lemak
- 3) Minuman beralkohol

Factor risiko yang mempunyai dampak positif seperti :

- 1) Peningkatan konsumsi serat
- 2) Peningkatan konsumsi buah dan sayur

b. Hormone dan factor reproduksi

- 1) Menarche atau menstruasi pertama pada usia relative muda (kurang dari 12 tahun)
- 2) Menopause atau mati haid pada usia relative lebih tua (lebih dari 50 tahun)
- 3) Nulipara / belum pernah melahirkan
- 4) Infertilitas
- 5) Melahirkan anak pertama pada usia relative lebih tua (lebih dari 35 tahun)
- 6) Pemakaian kontrasepsi oral (pil KB) dalam waktu lama (lebih dari 7 tahun)
- 7) Tidak menyusui

c. Riwayat keluarga

Pada kanker payudara, telah diketahui beberapa gen yang dikenali mempunyai kecenderungan untuk terjadinya kanker payudara yaitu gen BRCA I, BRCA 2, dan juga pemeriksaan histopatologi factor proliferasi. Pada masyarakat umum yang tidak dapat memeriksakan gen dan factor poliferasinya, maka riwayat kanker pada keluarga merupakan salah satu factor risiko terjadinya penyakit.

- 1) Tiga atau lebih keluarga (saudara ibu klien atau bibi) dari sisi keluarga yang sama terkena kanker payudara atau ovarium
- 2) Dua atau lebih keluarga dari sisi yang sama terkena kanker payudara atau ovarium usia dibawah 40 tahun.
- 3) Adanya keluarga dari sisi yang sama terkena kanker payudara dan ovarium
- 4) Adanya riwayat kanker payudara bilateral pada keluarga
- 5) Adanya riwayat kanker payudara pada pria dalam keluarga.

6. Gejala

Gejala yang sering terjadi adalah adanya benjolan disekitar payudara . benjolan tersebut dapat dirasakan dengan cara diraba. Selain itu muncul juga kerutan seperti kulit jeruk pada payudara dan puting payudara mengeluarkan cairan berupa nanah atau darah yang sulit disembuhkan. Gejala klinis kanker payudara dapat berupa (Maysaroh, 2013: 20-21):

a) Benjolan pada payudara

Umumnya berupa benjolan yang tidak nyeri pada payudara. Benjolan ini mula-mula kecil, semakin lama akan semakin besar, lalu melakat pada kulit atau menimbulkan perubahan pada kulit payudara atau puting susu.

b) Erosi atau eksema puting susu

Kulit atau puting susu tadi menjadi tertarik ke dalam, berwarna merah muda atau kecoklat-coklatan sampai menjadi oedema hingga kulit kelihatan seperti kulit jeruk, mengkerut atau timbul borok pada payudara.

c) Keluarnya cairan

Dimana keluarnya cairan dari puting susu secara spontan dan tidak normal. Cairan yang keluar disebut normal apabila terjadi pada wanita yang hamil, menyusui dan memakai pil kontrasepsi. Seorang wanita harus waspada apabila dari puting susu keluar cairan berwarna berdarah cairan encer dengan warna merah atau coklat, keluar sendiri tanpa harus memijit puting susu berlangsung terus menerus hanya satu payudara dan cairan selain air susu.

7. Mekanisme

Sel-sel kanker dibentuk dari sel-sel normal dalam suatu proses rumit yang disebut tranformasi, yang terdiri dari tahap inisiasi dan promosi (maysaroh, 2013: 16-17):

a. Fase inisiasi

Pada tahap inisiasi terjadi suatu perubahan dalam bahan genetik sel yang memancing sel menjadi ganas. Perubahan dalam bahan genetik sel ini disebabkan oleh suatu agen yang disebut karsinogen, yang bisa berupa bahan kimia, virus, radiasi (penyinaran) atau sinar matahari. Tetapi tidak semua sel memiliki kepekaan yang sama terhadap suatu karsinogen. Kelainan genetik dalam sel atau bahan lainnya yang disebut promotor, menyebabkan sel lebih rentan terhadap suatu karsinogen. Bahkan gangguan fisik menahunpun bisa membuat sel menjadi lebih peka untuk mengalami suatu keganasan.

Progesteron, sebuah hormon yang meningkatkan ductal ide branching pada kelenjar payudara dan lobulalveologensis pada sel epitel payudara, diperkirakan berperan sebagai aktivator lintasan tumorigenesis pada sel payudara yang diinduksi oleh karsonogen. Progestin akan menginduksi transkripsi regulator siklus sel berupa siklin D1 untuk disekresi sel epitelial. Sekresi dapat ditingkatkan sekitar 5 hingga 7 kali lipat dengan stimulasi hormon estrogen, oleh karena estrogen merupakan hormon yang mengaktifasi ekspresi pencerap progesteron pada sel epitelial. Selain itu, progesteron juga menginduksi sekresi kalsitonin sel lumen dan morfogenesis kelenjar.

b. Fase promosi

Pada tahap promosi, suatu sel yang telah mengalami inisiasi akan berubah menjadi ganas. Sel yang belum melewati tahap inisiasi tidak akan terpengaruh oleh promosi. Karena itu diperlukan beberapa faktor untuk terjadinya keganasan (gabungan sel yang peka dan suatu karsonogen).

c. Fase metastasis

Metastasis menuju ke tulang merupakan hal yang kerap terjadi pada kanker payudara, beberapa diantaranya disertai komplikasi lain seperti simtoma hiperkalsemia, *pathological fractures* atau *spinal cord compression*. Metastasis demikian bersifat osteolitik, yang berarti bahwa osteoklas hasil induksi sel kanker merupakan mediator osteolisis dan mempengaruhi diferensiasi dan aktivitas osteoblas serta dan osteoklas lain hingga meningkatkan resorpsi tulang.

Tulang merupakan jaringan unik yang terbuat dari matriks protein yang mengandung kalsium dengan kristal hydroxyapatite sehingga mekanisme yang biasa digunakan oleh sel kanker untuk membuat ruang pada matriks ekstraselular dengan

penggunaan enzim metaloproteinase matriks tidaklah efektif. Oleh sebab itu, resorpsi tulang yang memungkinkan invasi neoplastik terjadi akibat interaksi antara sel kanker payudara dengan sel endotelial yang dimediasi oleh ekspresi VEGF. VEGF merupakan mitogen angiogenik positif yang bereaksi dengan sel endotelial. Tanpa faktor angiogenik negatif seperti angiostatin, sel endotelial yang berinteraksi dengan VEGF sel kanker melalui penceraup VEGFR-1 dan VEGFR-2, akan meluruhkan matriks ekstraseluler, bermigrasi dan membentuk tubulus. (Maysaroh, 2013: 17-18)

Estrogen, terutama estradiol 17β (E2), sangat penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel epitel payudara secara normal. Umumnya estrogen mengatur respon seluler melalui ikatan dengan dua reseptor kognitif, $ER\alpha$ dan $ER\beta$, yang merupakan ligan pengatur transkripsi dengan berbagai fungsi fisiologis. Dalam inti sel, estrogen memodulasi ekspresi gen estrogen responsif melalui aksi kedua reseptor estrogen pada tahap transkripsi. Estrogen juga dikonversi menjadi metabolit estrogen oksidatif melalui sejumlah enzim sitokrom P450 dalam sel payudara. Namun, kelebihan estrogen merupakan faktor etiologi utama pada perkembangan kanker payudara. Efek karsinogenik dari E2 disebabkan oleh perubahan jalur genomik inti yang dimediasi oleh $ER\alpha$ dan $ER\beta$, jalur nongenomik dimediasi oleh membran plasma yang terhubung reseptor estrogen dan efek genotoksik yang dihasilkan oleh kerusakan oksidatif dari metabolit estrogen (Chen dan Russo, 2009: 161).

Ada dua bentuk reseptor progesteron, yaitu PR-A dan PR-B. kedua reseptor ini termasuk faktor transkripsi inti yang teraktivasi ligan yang memediasi aksi progesteron. Adanya reseptor ini pada tumor payudara digunakan untuk memprediksi fungsi dari reseptor estrogen, dan juga untuk memprediksi kemungkinan adanya respon pada terapi endokrin. Telah terbukti bahwa pasien dengan kadar PR-A yang

tinggi memiliki tingkat ketahanan tubuh yang rendah terhadap penyakit ini dan PR-B terlibat dalam stimulasi insulin dengan migrasi sel pada sel kanker payudara. Progesteron dan reseptor progesteron sangat penting dalam peningkatan estrogen pada kanker payudara. Ekspresi yang berlebihan (*over-expression*) dan/atau pengerasan gen (*gene amplification*) dari HER-2 adalah tanda patologis yang penting pada pasien kanker payudara yang positif terhadap reseptor estrogen. Ekspresi yang berlebihan dari HER-2 terjadi akibat aktivitas selular yang tidak normal (Chen dan Russo, 2009: 163).

Karsinogenesis payudara melibatkan perubahan genetik dan epigenetik yang menyebabkan fungsi gen menyimpang (Lo dan Sukumar, 2008: 1879–1880).

Semua wanita dengan kanker payudara dini harus dipertimbangkan untuk mendapat terapi pembantu diikuti operasi pengangkatan tumor. Pilihan pengobatan tambahan ditentukan oleh faktor risiko kekambuhan, status reseptor estrogen tumor primer, dan status *menopause* (Thurston, 2007: 127).

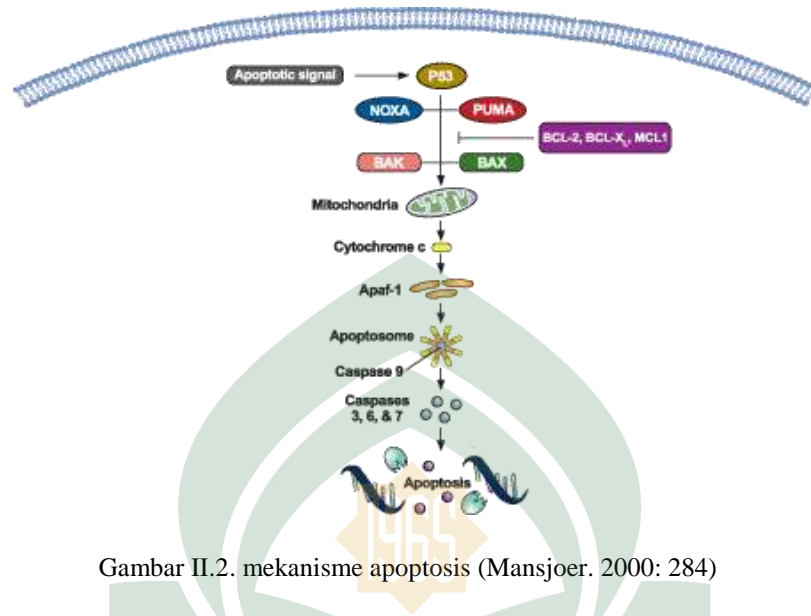
Faktor-faktor lain yang perlu diperhatikan dan menjadi faktor risiko terjadi kanker payudara antara lain densitas payudara, usia, riwayat kanker keluarga, serta komposisi jaringan payudara (Boyd *et al*, 2010: 1225–1229).

Apoptosis merupakan proses destruksi selular yang secara normal terdapat dalam tubuh untuk melindungi sel dengan melawan sel-sel yang abnormal atau sel-sel yang cacat (*faulty cells*). Setiap sel mampu menangkap rangkaian sinyal kimia yang berbeda. Apabila terdapat sinyal yang kurang atau tidak ada, maka mekanisme destruksi sel akan diinisiasi. Apoptosis juga penting dalam menghancurkan sel yang keluar dari lingkungan jaringan normalnya. Sel kanker yang mengalami metastasis

telah mengalami perubahan genetik sehingga terhindar dari proses ini. Dua jalur apoptosis telah digolongkan (Patrick, 2009: 522–523):

- a. Rute eksternal di mana apoptosis hasil dari faktor eksternal, yang terdiri atas tiga bentuk. Pertama, kurangnya hormon faktor pertumbuhan. Kedua, terdapat protein yang disebut protein aktivator kematian (*death activator proteins*) yang dapat terikat pada protein membran sel yang disebut reseptor faktor nekrosis tumor (*tumour necrosis factor receptors*, TNF-R). Hal ini memicu sinyal inisiasi proses apoptosis, sehingga sistem imun memproduksi limfosit T yang beredar pada tubuh untuk mencari sel yang rusak. Pada saat ditemukan, limfosit melubangi membran sel dari sel yang rusak dan memasukkan enzim yang disebut *granzyme*, yang menginisiasi apoptosis.
- b. Jalur intrinsik dapat timbul dari faktor-faktor seperti kerusakan DNA yang disebabkan oleh senyawa kimia, obat-obatan, atau stres oksidatif. Sel memiliki sistem yang mendeteksi kerusakan dan menyebabkan peningkatan produksi dari protein penekan tumor (*tumour suppressor protein*) p53. Pada kadar yang cukup, protein ini akan memicu apoptosis.

Mitokondria mengandung protein yang dapat menyebabkan apoptosis, yaitu sitokrom C. Pelepasan sitokrom C dari mitokondria menghasilkan protein kompleks yang dikenal dengan apoptosom yang berasal dari protein yang disebut Apaf-1. Apoptosom kemudian mengaktivasi enzim procaspase 9 yang akan mengaktivasi caspase. Caspase adalah enzim protease yang mengandung residu sistein dengan sisi aktif yang penting dalam mekanisme katalisis. Karena caspase merupakan enzim protease, sehingga dapat menghancurkan protein sel dan mengarah pada destruksi sel (Patrick, 2009: 523)



Gambar II.2. mekanisme apoptosis (Mansjoer. 2000: 284)

8. Stadium Kanker Payudara

Stadium penyakit kanker adalah suatu keadaan dari hasil penilaian dokter saat mendiagnosa suatu penyakit kanker yang diderita pasiennya, sudah sejauh manakah suatu penyakit kanker yang tersebut baik ke organ atau jaringan sekitar maupun penyebaran ketempat lain. Untuk menentukan suatu stadium harus dilakukan pemeriksaan klinis dan ditunjang dengan pemeriksaan penunjang lainnya yaitu histopatologi atau PA, rontgen, USG, dan bila cara untuk menentukan stadium, namun yang paling banyak dianut saat ini adalah stadium kanker berdasarkan klasifikasi sistem TNM yang direkomendasikan oleh IUCC (International Union Against Cancer dari WHO)/ (American Joint Committee On College of Surgeons). TNM merupakan singkatan dari “T” yaitu size atau ukuran tumor, “N” yaitu node atau kelenjar getah bening regional dan “M” yaitu metastasis atau penyebaran jauh. Pada kanker payudara penilaian TNM sebagai berikut (Maysaroh, 2013: 19-20):

- a. T (tumor size), ukuran tumor:
 - 1) T0 : tidak ditemukan tumor primer

- 2) T1 : ukuran tumor diameter 2 cm atau kurang
 - 3) T2 : ukuran tumor diameter antara 2-5cm
 - 4) T3 : ukuran tumor diameter >5cm
 - 5) T4 : ukuran tumor berapa saja, tetapi sudah ada penyebaran ke kulit atau dinding dada atau pada keduanya, dapat berupa borok, edema atau bengkak, kulit payudara kemerahan atau ada benjolan kecil dikulit diluar tumor utama.
- b. N (node), kelenjar getah bening regional (kgb):
- 1) N0 : tidak terdapat metastasis pada kgb regional diketiak/ aksilla.
 - 2) N1 : ada metastasis ke kgb aksilla yang sulit digerakkan
 - 3) N3 : ada metastasis ke kgb aksilla yang sulit digerakkan
 - 4) N3 : ada metastasis ke kgb diatas tulang selangka atau pada kgb di mammary interna di dekat tulang sternum.
- c. M (metastasis), penyebaran jauh :
- 1) Mx : metastasis jauh belum dapat dinilai
 - 2) M0 : tidak terdapat metastasis jauh
 - 3) M1 : terdapat metastasis jauh
- Setelah masing-masing faktor T, N, dan M didapatkan, ketiga faktor tersebut kemudian digabungkan dan akan diperoleh stadium kanker sebagai berikut :
- a. Stadium 0 : T0 N0 M0
 - b. Stadium 1 : T1 N0 M0
 - c. Stadium II A : T0 N1 M0/T1 N1 M0/T2 N0 M0
 - d. Stadium II B : T2 N1 M0 / T3 N0 M0
 - e. Stadium III A : T0 N2 M0 / T1 N2 M0 / T2 N2 M0 / T3 N1 M0

- f. Stadium III B : T4 N0 M0 / T4 N1 M0 / T4 N2 M0
- g. Stadium III C : tiap T N3 M0
- h. Stadium IV : Tiap T-Tiap N- M1

9 Deteksi dan diagnosis kanker payudara

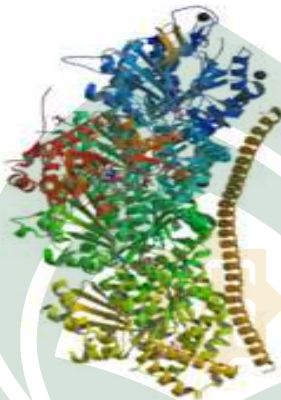
Deteksi dan diagnosis kanker payudara antara lain (Harmanto. 2006: 66):

- a. Pemeriksaan payudara sendiri (SADARI): untuk melihat adanya keadaan tidak normal pada payudara sendiri.
- b. Riwayat medis: mencari tahu tentang riwayat penyakit sebelumnya, yang mungkin berhubungan dengan kondisi medis saat ini.
- c. Pemeriksaan fisik: dapat berupa pemeriksaan visual (penglihatan), dapat pula berupa palpasi (perabaan).
- d. Mamografi: mamografi dapat mendeteksi massa yang sangat kecil untuk di raba, dan dapat memberikan dugaan ada tidaknya sifat keganasan dari massa yang berbeda.
- e. Biopsi: merupakan pemeriksaan histopatologik (jaringan) yang dapat berupa eksisional (seluruh massa diangkat) atau insisional sebagiann massa dibuang). Analisa mikroskopik dari specimen menyatakan ada atau tidaknya kegansan.

H. Polimerisasi Tubulin Target cel MCF-7

Tubulin adalah sebuah protein eukariotik esensial tubulin merupakan protein eukariotik assential yang memainkan peran penting dalam pembelahan sel dan mikrotubulus-target obat yang sekarang sangat diperlukan untuk terapi berbagai jenis kanker di seluruh dunia. pembentukan mikrotubulus adalah proses adinamic yang melibatkan polimerisasi dan depolimerisasi dari R dan d tubulin d heterodimers. senyawa yang mengganggu kesetimbangan microtubulin dalam sel yang berguna

dalam pengobatan kanker manusia. mereka mengganggu keseimbangan dinamis ini dengan mengikat Tubulin dan menginduksi penangkapan siklus sel, mengakibatkan kematian sel. (Wang, 2015: 4).



Gambar II.3. Rangkaian tubulin alfa dan beta (Prota.2013: 2).

Agen antimitosis sebagian besar penuh menjadi tiga kelas utama. yang taxanes kami paclitaxel seperti dan docetaxel menstabilkan mikrotubulus dengan mencegah depolymerisation dari tubulin. alkaloid vinca (misalnya vinkristin, vinblastin, Dan vinoreblin) dan colchicine menghambat polimerisasi tubulin. gangguan dinamika tubulin mengarah ke penangkapan siklus sel di G2 / M fase dan induksi apoptosis (Wang, 2015: 4).

Pengikatan tubulin-agen seperti agen-agen antimitotik dengan mikrotubulus sebagai target tubulin. Senyawa-senyawa tersebut digunakan untuk pengobatan kanker payudara. Dalam bidang klinik beberapa penghambat tubulin seperti taxan, vinca alkaloid, telah dibatasi oleh neurotoxicity dan resistensi obat. Perkembangan dari tipe obat ini difokuskan pada desain penghambatan tubulin. (NIU. 2014: 1).

Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel tersebut diambil dari jaringan payudara seorang

wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel adherent (melekat) yang dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM atau RPMI yang mengandung foetal bovine serum (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin 1% . Sel MCF-7 memiliki karakteristik antara lain resisten agen kemoterapi, mengekspresikan reseptor estrogen (ER +), overekspresi Bcl-2 dan tidak mengekspresikan caspase-3. Sel MCF-7 tergolong cell line adherent (ATCC, 2008) yang mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), resisten terhadap doxorubicin, dan tidak mengekspresikan caspase-3. Sebuah ekspresi yang berlebihan dari reseptor σ_2 telah dilaporkan dalam berbagai tumor pada manusia (Tu *et al*, 2007: 3194).

I. Senyawa Benzimidazole Sebagai Target Aksi Obat

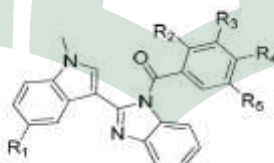
Benzimidazole adalah senyawa heterosiklik yang terbentuk dari benzena dan cincin imidazol yang mengandung nitrogen, oksigen sulphor dan turunannya yang menarik secara meluas karena aktivitas biologis dan aplikasi klinis yang beragam, Benzimidazole adalah senyawa yang sangat efektif terkait dengan aktivitas penghambatan dan rasio selektivitas yang menguntungkan. Benzimidazole telah dianggap sebagai golongan senyawa heterosiklik yang menjanjikan karena menunjukkan berbagai kegiatan biologis seperti anti-mikroba, anti-virus, anti-kanker, anti-parasit, anti-helminthics, anti-proliferasi, dan, anti-HIV. (Singh, 2012: 119).

Senyawa derivat benzimidazole ini dapat berikatan dengan tubulin sehingga terjadi inhibisi polimerisasi mikrotubulus sehingga terjdihambatan pembelahan sel.senyawaini pada dasarnya mempengaruhi proses mitosis, aktivitas seluler yang berkaitan dengan mikrotubulus, seperti proses fagositosis leukosit dan hemotaksis serta sistem transfer diakso neuron. (patrick, 2009: 265).

Secara potensial aktivitas penghambatan polimerisasi tubulin oleh adanya pengikatan suatu senyawa terhadap tubulin. Karakteristik skruktur kimia mereka, dibangun oleh skruktur indole dan amida yang memainkan peran penting terhadap penghambatan polimerisasi tubulin. Terlebih dari N-Methylindol yang memiliki sitotoksitas paling poten dan dalam menghambat polimerisasi tubulin. Nocodazole mengandung kelompok penting di atas, bensimidazole. Beberapa studi menyatakan bahwa, agen-agen yang mengandung senyawa bensimidazole sangat bagus terhadap aktivitas antitumor.

Beberapa penelitian dan studi model molekular mendesain dan mensintesis agen penghambat tubulin baru. Senyawa 1-benzene acyl-2-(methylindol-3yl)-bensimidazole merupakan kelompok agenagen antitubulin.

Tabel II.2. Senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methylindol-3yl)-bensimidazole sebagai polimerisasi tubulin inhibitor dan antiprolifersi MCF-7



Gambar II.4. senyawa penuntun 1-benzene acyl-2-(methylindol-3yl)-bensimidazole

Senyawa	R1	R2	R3	R4	R5
10a	H	H	H	H	H
10b	H	-OCH3	H	H	H
10c	H	H	-OCH3	H	H
10d	H	H	H	-OCH3	H
10e	H	H	-OCH3	-OCH3	-OCH3
10f	H	H	-OCH3	-OCH3	H
10g	H	Br	H	H	H

10h	H	H	Br	H	H
11a	-OCH3	H	H	H	H
11b	-OCH3	-OCH3	H	H	H
11c	-OCH3	H	-OCH3	H	H
11d	-OCH3	H	H	-OCH3	H
11e	-OCH3	H	-OCH3	-OCH3	H
11f	-OCH3	H	-OCH3	-OCH3	-OCH3
11g	-OCH3	Br	H	H	H
11h	-OCH3	H	Br	H	H
12a	Br	H	H	H	H
12b	Br	-OCH3	H	H	H
12c	Br	H	-OCH3	H	H
12d	Br	H	H	-OCH3	H
12e	Br	H	-OCH3	-OCH3	H
12f	Br	H	-OCH3	-OCH3	-OCH3
12g	Br	Br	H	H	H
12h	Br	H	Br	H	H

Tabel I.3. Data aktivitas inhibisi (MIC) senyawa turunan Senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methyindol-3yl)-bensimidazole terhadap pertumbuhan sel *MCF-7 (Human Brest Carinom Cells*.

Senyawa	IC50 (μM) MCF-7
10a	43,7
10b	32,1
10c	12,7
10d	16,3
10e	10,2

10f	5,4
10g	70,1
10h	63,4
11a	38,4
11b	23,9
11c	14,6
11d	14,8
11e	6,3
11f	5,1
11g	55,8
11h	52,7
12a	50,3
12b	36,2
12c	18,2
12d	19,2
12e	11,3
12f	9,7
12g	73,6
12h	68,2

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah studi kuantitatif.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium komputer Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.

B. Pendekatan Penelitian

Pendekatan penelitian yang dilakukan adalah pendekatan eksperimentatif.

C. Alat dan Bahan

1. Perangkat Keras

Perangkat keras yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu set komputer yang mampu melakukan perhitungan kimia komputasi dengan spesifikasi: Prosesor tipe AMD Radeon™ Core i5 3210M 2,50 GHz, HD 7670M, dan hard disk 640 GB.

2. Perangkat Lunak

Hyperchem, Molecular Operating Environment (MOE), Microsoft Excel, dan SPSS 17.

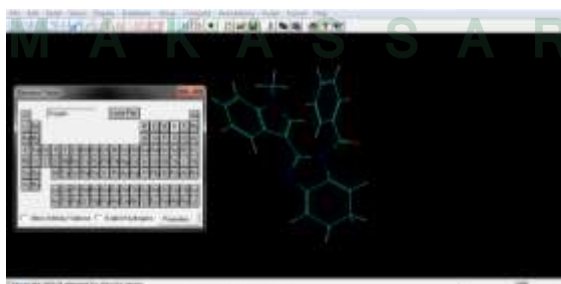
D. Prosedur Kerja

1. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas

a. Pemodelan Struktur Senyawa

Dengan menggunakan paket program *Hyperchem*, pemodelan struktur senyawa turunan 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole. Pembuatan model senyawa terdiri atas pemilihan atom, jenis ikatan, dan muatan total dari senyawa uji. Digambar skruktur senyawa dengan baik dan rapi. Kemudian diberi warna garis sesuai atomyang diikat. Misalnya warnamerah untuk atom O, warna biruuntuk atom C, warna biru tua untuk atom N, dan lain-lain. Perhatikan jumlah ikatan atom-atomnya, kemudian di optimasi setelah di add hidrogen. Struktur tiga dimensi (3D) setiap senyawa disimpan dalam format ekstensi *.hin.

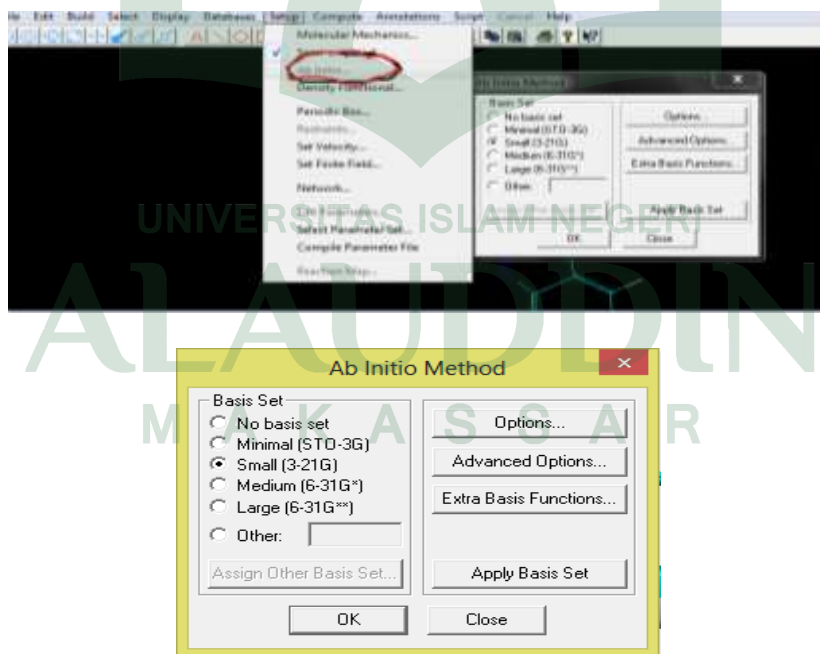
Sebagai bahan penelitian digunakan data nilai afinitas hasil eksperimen secara *in vitro* terhadap satu seri senyawa turunan 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole yng diambil dari jurnal hasil penelitian Yang-Ting Wang, Ya-Juan Qin, Ya-Liang Zhang, chang-Hong Liu, Hai-Liang Zhu (2015) dengan judul *Synthesis,Biological Evaluation, nd Molekular Docking studies of Novel 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole Derivatives as Potential Tubulin Polimeritation Inhibitor and For The cytotoxicity against anthripic cancer cell lines.*



Gambar III.1. Jendela *Hyperchem*

b. Optimasi Geometri

Setelah melakukan pemodelan skruktur senyawa, struktur senyawa dioptimasi dengan perangkat lunak *Hyperchem* menggunakan metode *Ab initio*. Optimasi struktur geometri bertujuan untuk memperoleh konformasi struktur yang lebih stabil. Proses optimasi dilakukan dengan langkah dengan memilih *setup* >> *Ab initio*, selanjutnya diatur basis set menjadi *minimal (STO-3G)*, *small (3-21G)*, *medium (6-31G)*, dan lain-lain tergantung periode atom-atom yang ada. Selanjutnya *Hyperchem* >> *Compute* >> *Geometry Optimization* untuk memulai perhitungan optimasi geometri dengan parameter *default*. Hasil perhitungan *Ab initio* lebih akurat dibanding dengan semiempirik, sebab *Ab initio* menyelesaikan semua persamaan mekanika kuantum secara eksak dan semua elektron yang ada diperhitungkan. Kemudian File yang telah dioptimasi disimpan dalam format “HIN” dalam bentuk “MDL MOL”.



Gambar III.2. Panel Optimasi *Ab Initio* menggunakan program *Hyperchem*

c. Kalkulasi Deskriptor

Untuk mengkalkulasi nilai-nilai deskriptor menggunakan program MOE. Deskriptor yang dihitung adalah AM1_dipole, AM1_E, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_LUMO, ASA_H, glob, log P (o/w), log S, mr, vol, VSA. Perhitungan dimulai dengan pembuatan database senyawa turunan 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole dengan memasukkan struktur senyawa yang telah dioptimasi ke file database.

Urutan perintah untuk kalkulasi deskriptor adalah *Database Viewer >> Compute >> Descriptors >> Calculate*, kemudian dipilih deskriptor yang akan dihitung, kemudian tekan OK.

Database Viewer : f:\wsk\wsk\z\source\benzamide.rnd\

File Edit Display Complete Window Help

Cancel

	mol	AM1_E	AM1_HF	AM1_LUMO	ASA_H	glob	logP	logS	mr	vol	VSA	log		
1	P1/F11a H2/Senyawa 11a.mol	3.0185	-116725.01	-899094.25	-100.8818	-8.0866	-8.9608	120.2036	0.8337	3.2427	-4.2075	11.4205	485.1590	451.7447
2	P1/F11a H2/Senyawa 11b.mol	3.3370	-109187.54	-842033.00	-72.4374	-8.7664	-8.9324	120.7605	0.8338	3.2179	-3.5718	10.4707	488.0800	449.0747
3	P1/F11a H2/Senyawa 12a.mol	3.6438	-131739.43	-1021865.5	-130.0050	-8.0373	-8.5105	100.2677	0.8377	3.4855	-4.8744	11.3750	439.6750	467.6158
4	P1/F11a H2/Senyawa 12b.mol	3.4886	-130385.43	-857555.31	-84.8577	-8.8623	-8.5145	104.8191	0.8371	3.5567	-4.3367	11.8500	431.1250	474.9084
5	P1/F11a H2/Senyawa 13a.mol	4.5655	-131739.38	-1000947.0	-127.8415	-8.0647	-8.3068	113.3836	0.8365	3.4855	-4.8744	11.3750	439.7500	466.1651
6	P1/F11a H2/Senyawa 13b.mol	3.7338	-116592.76	-945184.68	-82.0989	-8.8169	-8.3684	110.9340	0.8288	3.5567	-4.3367	11.4940	431.1250	476.0293
7	P1/F11a H2/Senyawa 14a.mol	3.1189	-126461.17	-1046242.3	-115.4389	-8.9008	0.1183	95.8400	0.8336	3.6427	-4.5785	11.6179	445.6250	488.5619
8	P1/F11a H2/Senyawa 14b.mol	2.5428	-115326.12	-881184.62	-86.5468	-8.8181	0.5983	95.9951	0.8255	3.7179	-4.8888	11.1731	439.6250	477.5343
9	P1/F11a H2/Senyawa 15a.mol	3.9561	-108485.76	-852444.61	-89.6555	-8.0855	-8.1847	99.8440	0.8355	3.0567	-3.7611	11.8426	386.0800	423.5292
10	P1/F11a H2/Senyawa 15b.mol	13.3689	-99987.518	-751822.18	-149.8481	11.1249	-9.9901	105.9319	0.8370	-4.8338	-1.5642	10.5487	379.0800	411.4674
11	P1/F11a H2/Senyawa 16.mol	4.9594	-138849.51	-1046218.8	-45.1233	-9.0182	-8.5403	200.5401	0.8337	-4.8587	-6.5019	11.3517	443.3750	518.4588
12	P1/F11a H2/Senyawa 17.mol	4.7348	-135123.78	-1059078.6	-136.2719	-8.9889	-9.5581	105.6701	0.8281	3.9275	-4.9761	11.8300	456.1250	507.5794
13	P1/F11a H2/Senyawa 18a.mol	4.8733	-118134.53	-960034.81	-109.0885	-8.9377	-8.2542	111.6535	0.8335	3.0425	-4.8718	11.9889	429.3750	464.9571
14	P1/F11a H2/Senyawa 19.mol	5.7031	-117185.70	-835963.31	-85.8982	-8.9342	-8.3913	130.3870	0.8382	3.5087	-4.8123	11.1815	394.0800	459.3840
15	P1/F11a H2/Senyawa 20.mol	5.1142	-111827.07	-850583.51	-86.3949	-8.8683	-8.0202	118.6987	0.8381	2.0081	-4.8057	10.9524	385.6250	432.1058
16	P1/F11a H2/Senyawa 21.mol	4.9881	-118115.85	-937128.75	-123.1538	-8.8684	-8.1814	113.7158	0.8289	3.0647	-4.8693	11.8881	421.7500	468.6435
17	P1/F11a H2/Senyawa 22a.mol	3.8586	-116520.46	-890752.50	-105.5138	-8.8888	-8.8008	117.1004	0.8364	3.1427	-4.2075	11.4205	485.1250	444.0772
18	P1/F11a H2/Senyawa 23a.mol	3.7344	-131728.85	-1005722.0	-128.1870	-8.0392	-8.5357	130.3300	0.8384	3.4851	-4.8744	11.7500	439.5800	467.5843
19	P1/F11a H2/Senyawa 24a.mol	6.0731	-100388.13	-843037.03	-127.8870	-11.5541	18.3088	133.7101	0.8388	3.9587	-3.4908	10.8861	385.8750	421.7320
20	P1/F11a H2/Senyawa 25a.mol	4.9865	-131893.25	-982165.12	-121.8135	-8.6788	-8.5687	67.8818	0.8345	3.9337	-4.8385	11.3888	418.7500	476.5752
21	P1/F11a H2/Senyawa 26a.mol	3.7286	-134680.48	-1037075.6	-103.7483	-8.6413	-8.5438	97.9182	0.8321	3.8137	-5.2158	11.4391	441.6250	466.1864
22	P1/F11a H2/Senyawa 27a.mol	3.8202	-138189.68	-1060827.3	-138.4882	-8.7884	-8.5496	132.6433	0.8321	4.2657	-5.4267	11.1894	469.6750	506.0270

20 Rows 6 selected, all visible 24 Rows 3 selected, all visible

Gambar III.3. Jendela Database Viewer

Tabel III.2. Daftar Deskriptor

No.	Simbol pada software	Simbol umum	Deskriptor
1.	AM_1dipole	μ	Momen dipole
2.	AM1_E	E _{Tot}	Energi total
3.	AM1_Eele	E _{Ele}	Energi elektronik
4.	AM1_HOMO	E _{HOMO}	Energi HOMO
5.	AM1_LUMO	E _{LUMO}	Energi LUMO
6.	AM1_HF	HF	Pembentukan panas
7.	ASA_H	Å	Luas permukaan hidrofobik
8.	ASA-P	A	Luas permukaan polar total
9.	Glob	Glob	Globularitas
10.	log P (o/w)	log P	Koefisien partisi
11.	log S	log S	Logaritma kelarutan dalam air
12.	Mr	MR	Refraktivitas molar
13.	VSA	VSA	Daerah permukaan van Der Waals
14.	Vdw-vol	Vdw-vol	Volume van der waals (A**2)
15.	Vol	Vol	Volume van der waals

d. Perhitungan Statistik

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai afinitas senyawa turunan *1-benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole* hasil eksperimen, pilih compute >> deskriptor >> calculate >> muncul pilihan deskriptor. sedangkan variabel bebas

yang digunakan berupa 15 deskriptor antara lain AM1_dipole, AM1_E, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_LUMO, ASA_H, ASA-P, glob, log P (o/w), log S, mr, vdw-vol, vol, VSA. Setelah menghitung ke 15 deskriptor tersebut, Tambahkan kolom IC50 dengan mengklik edit >> field >> ubah new field tipe menjadi float >> ketik log IC50 di kotak. Selanjutnya, masukkan nilai IC50 sampai semua terisi dengan carameng-klik kanan di baris yang ingin diisi >> edit >> Ketik nilai IC50. Semua variabel dianalisis menggunakan regresi multilinear metode *Backward* untuk mengetahui urutan variabel bebas yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa. Hasil yang diperoleh berupa persamaan HKSA beserta nilai parameter statistik seperti nilai r dan r^2 . Untuk mendapatkan model dengan nilai r tertinggi, dilakukan eliminasi senyawa yang memiliki deviasi terbesar berdasarkan nilai Z pada hasil komputasi MOE. Struktur senyawa dengan nilai $Z > 2$ dieliminasi dari perhitungan statistik. Selain parameter statistik, dari hasil perhitungan juga diperoleh nilai tetapan dan nilai koefisien setiap variabel bebas yang terlibat dalam persamaan yang dihasilkan. Nilai koefisien yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas secara teoritis.

e. Validasi dan Penetapan Model HKSA

Model-model HKSA yang terpilih divalidasi silang dengan menggunakan metode *Leave One Out*, yaitu dengan cara setiap senyawa yang diprediksi dihilangkan dalam perhitungan analisis regresi linear. Metode validasi ini dengan melakukan uji model persamaan dari data sejumlah (n-1) untuk melakukan ekstrapolasi terhadap tiap-tiap data yang ada sejumlah (n), atau dengan kata lain masing-masing data dihitung menggunakan persamaan yang diperoleh dari regresi data-data yang lain. Dengan melihat deviasi hasil validasi aktivitas prediksi dan eksperimen, maka dapat ditentukan suatu pola regresi dengan tingkat keakuratan yang

paling tinggi. Persamaan HKSA yang terpilih adalah persamaan dengan nilai kriteria statistik terbaik dan memenuhi kriteria validasi, yaitu $q^2 \geq 0,5$.

$$q^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}$$

untuk menghitung model QSAR, pilih compute >> model >> QSAR, pilih activity field >> pilih kolom IC50 >> fit >> centang comma >> centng semua pada bagian cross validation >> ok. Kemudian disimpan dalam bentuk format *.txt.

f. Menghitung Nilai Regresi

selanjutnya menghitung nilai regression linear dengan memilih analyze >> regression >> linear >> muncul daftar pilihan deskriptor yang akan diregresi >> memasukkan log IC50 ke kolom dependent dan semua deskriptor yang lainnya dari AM1-dipole sampai VSA ke kolom independent >> kemudian ditampilkan dalam bentuk backward >> muncul nilai hasil regression.

2. Docking Molekul

Teknik *docking* memungkinkan untuk mengevaluasi kecocokan obat potensial (ligan) ke situs reseptor. Sifat atom dan gugus fungsi dari struktur obat memungkinkan untuk menyelidiki pengikatan ligan ke situs target. Pendekatan yang digunakan adalah semi *rigid*, yaitu struktur protein dibuat *rigid*, sedangkan ligan fleksibel. Metode pendekatan ini akan memberikan kemungkinan interaksi dalam berbagai konformasi ligan sehingga memungkinkan untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Jumlah bentuk konformasi yang memungkinkan sesuai dengan banyaknya ikatan *rotatable* yang ada.

Tahapan prosedur *docking* terdiri dari tiga langkah, yaitu preparasi ligan, preparasi protein dan simulasi *docking*.

a. Preparasi Ligan

Ligan dalam bentuk struktur tiga dimensi dan dioptimasi dengan metode *Ab initio* menggunakan program *HyperChem*. Struktur kemudian disimpan dalam format *.mol. File dibuka pada Jendela MOE. Struktur diprotonisasi untuk menambahkan hidrogen dan muatan parsial, dengan *Protonate 3D* (urutan perintah *MOE >> Compute >> Protonate 3D*). File kemudian disimpan dalam database (*.mdb).



Gambar III.4. Jendela *Protonate 3D*

b. Preparasi Protein

Reseptor diunduh dari situs *RSCB.PDB* dengan kode 1A28 dalam format *.pdb/ent. Kemudian molekul air dihapus dari struktur. Selanjutnya protein diprotonisasi dengan langkah yang sama pada preparasi ligan. Untuk memastikan telah dilakukan protonasi, dilakukan pengecekan hingga dipastikan tiap atom pada molekul memiliki muatan yang sesuai.

c. Simulasi *Docking*

Ligan dan reseptor yang telah diprotonisasi dibuka dalam Jendela MOE. Panel Simulasi *docking* dibuka dengan urutan perintah *MOE >> Compute >> Simulations >>*

Dock. Receptor pada panel *Dock* diatur *Receptor+Solvent*, *Site* diatur *Ligand Atoms*. *Ligand* diatur *MDB File* (atau *Selected Atoms* jika Ligan terbuka pada Jendela MOE dan di-select). *Placement* diatur *proxy triangle*, *rescoring 1* menggunakan *ASE*, *rescoring 1* menggunakan *Alpha HB* dan *refinement* diatur *Force Field*. Posisi *docking* terbaik dipilih berdasarkan nilai *rmsd* (≤ 2) dan nilai *scoring* terendah.



Gambar III.5. Jendela *Dock*

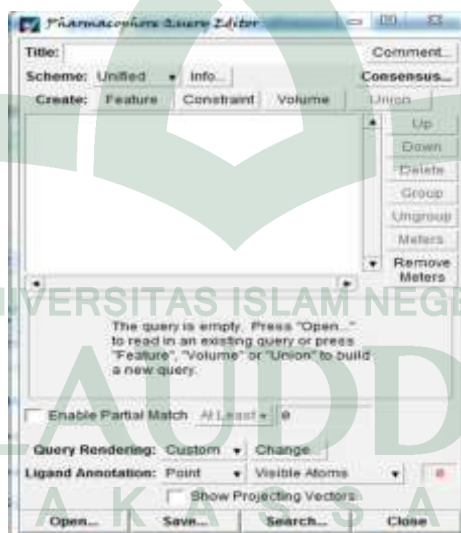
3. Penelusuran Farmakofor dan Virtual Skrining

a. Menyejajarkan Struktur Protein-Ligan

Protein-protein diunduh dari situs RCSB PDB. Seluruh struktur ligan dan protein kemudian dibuka pada Jendela MOE dan disejajarkan sehingga rantai memiliki struktur yang sama yang akan bergerak bersama-sama sebagai satu unit. Dengan cara ini kompleks protein-ligan dapat disejajarkan. File kemudian disimpan sebagai database.

b. Penentuan Fitur Farmakofor

Pencarian farmakofor secara hipotetik digambarkan sebagai *pharmacophore query*, yaitu seperangkat fitur *query* yang biasanya dibuat dari titik anotasi ligan. Titik anotasi adalah penanda dalam ruang yang menunjukkan lokasi dan jenis atom atau gugus yang penting, seperti donor dan akseptor hidrogen, pusat aromatik, posisi proyeksi interaksi yang mungkin, muatan gugus, dan bio-isosterik. Poin-poin anotasi pada ligan adalah lokasi fitur yang potensial yang akan menjadi *query pharmacophore*. Fitur farmakofor ditentukan melalui empat tahapan yaitu membuat database konformasi, membuat *Query Pharmacophore*, mencari fitur farmakofor berdasarkan *Query Pharmacophore* pada database konformasi, kemudian memperbaiki *Query*.



Gambar III.6. Panel *Pharmacopore Query Editor*

Query Pharmacopore dibuat dengan menggunakan senyawa obat yang dianggap mampu terikat dengan protein 3MEC hingga dijadikan sebagai penuntun. Setelah senyawa penuntun terbuka pada jendela MOE, *Pharmacopore Query editor*

dibuka dengan perintah *MOE> File> New> Pharmacopore Query*. Skema anotasi farmakofor otomatis membuat *query pharmacopore*, sehingga pada jendela MOE akan terlihat fitur-fitur farmakofor yang terdapat pada senyawa penuntun. Skema anotasi yang digunakan adalah *unified*. Titik anotasi yang sesuai dengan hasil penelitian interaksi ligan reseptor dan SAR dipilih untuk menjadi fitur farmakofor.

Langkah ketiga adalah menjalankan *pharmacophore search*. Tujuannya adalah untuk menguji *query pharmacophore* apakah cocok dengan fitur-fitur farmakofor dari keseluruhan senyawa atau sebagian senyawa yang terbaik, sehingga dapat ditentukan fitur berperan penting pada aktivitas senyawa. Perbaikan *query* dimaksudkan untuk memodifikasi *query* atau menghasilkan kecocokan dengan pengaturan *query* yang lebih ketat.

Untuk molekul yang mirip dapat diselaraskan dan dibuat konsensus sehingga memudahkan untuk memilih fitur farmakofor. Konsensus farmakofor menyediakan fitur yang disarankan yang terdapat pada molekul-molekul yang selaras. Penyelarasan (alignment) senyawa-senyawa dalam database konformasi dengan menggunakan MOE's Flexible Alignment, dengan urutan perintah *MOE> Compute> Simulations> Flexible Alignment*.

Langkah keempat adalah virtual skrining, dengan mendownload terlebih dahulu beberapa ribu senyawa dari zinc¹² databes. Senyawa-senyawa yang telah didownload kemudian disimpan sebagai databes, untuk melakukan langkah virtual skrining ikuti beberapa perintah *MOE> Compute> Pharmacophore> Search*. Senyawa hits kemudian *didocking* dengan menggunakan metode *pharmacophore*, metode *docking* ini sedikit berbeda dengan metode *docking* yang dilakukan pada senyawa yang digunakan pada perhitungan HKSA, pada *docking* senyawa

menggunakan metode farmakofor pada panel *dock* bagian *pharmacophore* dipilih *PH4 File* kemudian dipilih fitur farmakofor yang digunakan dan pada bagian *Placement* dipilih *Pharmacophore*.

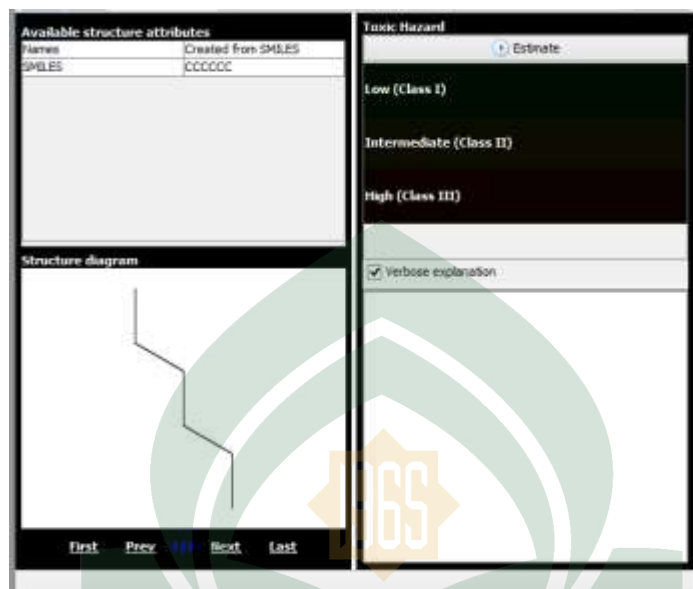
Tujuan virtual skrining adalah untuk memperoleh senyawa-senyawa yang hits antara senyawa-senyawa dari zinc databes dengan fitur farmakofor yang diperoleh. Virtual skrining dapat juga dilakukan pada beberapa aplikasi kimia komputasi lainnya, seperti Autodoc Vina.

4. Studi Bioavailabilitas

Senyawa yang memiliki kelarutan dan permeabilitas yang buruk dapat diprediksi menggunakan *rule of 5* lipinski. Pada *rule of 5* lipinski menyatakan bahwa absorpsi dan permeasi yang kurang baik ketika suatu senyawa memiliki lebih dari lima donor ikatan hidrogen (ditunjukkan dengan jumlah OH dan NH), berat molekul lebih dari 500, Log P lebih dari 5 (atau MLogP lebih dari 4.15), dan terdapat lebih dari 10 akseptor ikatan H (ditunjukkan oleh jumlah N dan O).

5. Studi Toksisitas

Prediksi ini dilakukan dengan menginput file struktur dalam bentuk *.mol. Selanjutnya memilih metode penentuan kriteria toksisitas pada senyawa. *Klik method* >> *select a decision tree* >> *select available decision tree* >> *ok* >> *estimate* >> *save *.pdf*. Estimasi dilakukan untuk melihat penentuan kriteria toksisitas suatu senyawa berdasarkan *toxtr*. Sebelum melakukan estimasi maka dipilih *verbose explanation* untuk menentukan tingkatan dan detail dari hasil yang didapatkan.



Gambar III.7. JendelaToxtree

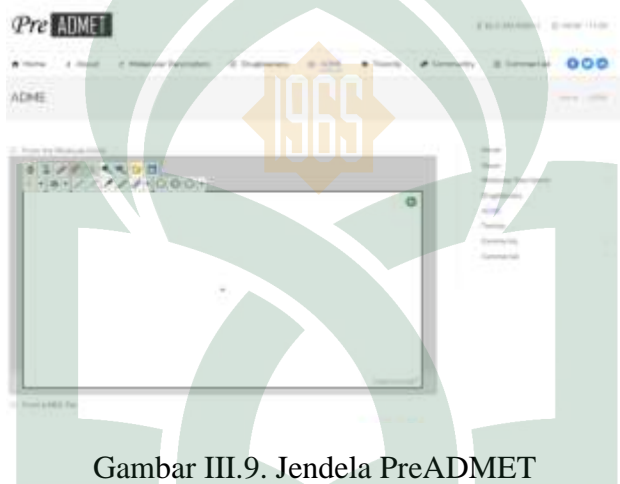
Selain Toxtree, digunakan juga admetSAR untuk mengetahui nilai toksisitas pada ikan, tikus, dan *Tetrahymena Pyriformis*. Caranya dengan memilih *Predict* dari jendela Home >> masukkan format smiles senyawa pada kotak *Input SMILES Here* >> *Predict*.



Gambar III.8. Jendela AdmetSAR

6. Studi Farmakokinetik

Prediksi ini dilakukan dengan bantuan dari situs *preadmet.bmdrc.org* yang merupakan aplikasi berbasis web untuk memprediksi data ADME dan membangun sifat-sifat *drug-like* menggunakan metode *in silico*. Klik *load >> masukkan data dari file mol yang dibuka menggunakan fasilitas perangkat lunak pengolah data (Microsoft Office Word atau WordPad) >> Load >> Submit*.



Gambar III.9. Jendela PreADMET

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA)

Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) merupakan metode regresi kuantitatif yang mencoba menghubungkan struktur kimia dengan aktivitas biologi. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) dalam artian yang paling sederhana merupakan metode untuk membangun model komputasi atau matematika yang mencoba untuk menemukan korelasi yang signifikan secara statistik antara struktur dan fungsi menggunakan teknik chemometric. Proses pemodelan 24 struktur senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methyldol-3yl)-bezimidazole dilakukan menggunakan program *HyperChem* 8.0. sehingga diperoleh molekul tiga dimensi. File disimpan dalam format ekstensi .hin. Kemudian dilakukan optimasi geometri atau minimasi energi untuk memperoleh konformasi struktur yang lebih stabil dengan energi molekul yang paling kecil. Optimasi geometri dilakukan dengan menggunakan metode *ab initio* untuk memperoleh konformasi struktur yang lebih stabil karena hasil perhitungan *ab initio* lebih akurat bila dibandingkan dengan semiempirik, sebab metode ini memperhitungkan semua elektron yang ada. Setelah itu, file hasil optimasi *Ab initio* yang telah disimpan dalam format ekstensi .hin diubah menjadi format ekstensi .ml2. File dengan format ekstensi .ml2 kemudian diubah menjadi format ekstensi .moe pada program *Molecular Operating Environment* (MOE).

Deskriptor pada program MOE digunakan untuk mengembangkan model HKSA untuk prediksi aktivitas senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methyldol-3yl)-benzimidazole sebagai inhibitor polimerisasi tubulin. Deskriptor pada MOE mampu menghitung koefisien korelasi antara senyawa yang diamati dan nilai sifat

prediksinya. Kajian HKSA ini menggunakan 24 senyawa. Pemilihan senyawa-senyawa ini didasarkan pada kemiripan kerangka struktur dari senyawa tersebut. Nilai aktivitas terhadap DNA Gyrase diperoleh dari hasil penelitian Hameed' *et al* (2014). Hasil perhitungan deskriptor kemudian dianalisis secara statistik menggunakan analisis regresi multilinear dengan bantuan perangkat lunak SPSS 17. Deskriptor-deskriptor tersebut diregresikan terhadap nilai afinitas (Log 1/MIC) sebagai variabel terikat dan deskriptor sebagai variabel bebas. Terdapat dua metode yang digunakan untuk melakukan analisis regresi multilinear pada SPSS, metode *Backward* digunakan untuk menentukan jumlah deskriptor yang akan digunakan sebagai kombinasi dalam persamaan, setelah jumlah deskriptor diperoleh, analisis regresi multilinear dengan metode *Enter* dilakukan untuk memperoleh 10 model persamaan terpilih berdasarkan pada nilai r.

Tabel IV.1. Hasil regresi multilinier metode *backward*

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1.	0,965 ^a	0,932	0,826	0,2196805918
2.	0,965 ^b	0,932	0,843	0,2082575858
3.	0,965 ^c	0,931	0,856	0,1997446627
4.	0,965 ^d	0,931	0,867	0,1916879625
5.	0,964 ^e	0,929	0,875	0,1859599807
6.	0,962 ^f	0,926	0,878	0,1837881851
7.	0,959 ^g	0,920	0,878	0,1839826080
8.	0,949 ^h	0,901	0,858	0,1980658982
9.	0,942 ⁱ	0,888	0,848	0,2049984493
10.	0,929 ^j	0,864	0,826	0,2194424624
11.	0,923 ^k	0,853	0,822	0,2221464791
12.	0,897 ^l	0,805	0,776	0,2490619131
13.	0,893 ^m	0,797	0,777	0,2483437658
14.	0,734 ⁿ	0,539	0,518	0,3652232819
15.	0.000 ^o	0,000	0,000	0,5261989667

- a. Predictors: (constant), VSA, Log S, AM1-HOMO, AM1-dipole, glob,AM1-HF, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, AM1-E, mr, vdw-vol.
- b. Predictors: (constant), Log S, AM1-HOMO, AM1-dipole, glob,AM1-HF, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, AM1-E, mr, vdw-vol.
- c. Predictors: (constant), Log S, AM1-HOMO, AM1-dipole, glob,AM1-HF, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, AM1-E, vdw-vol.
- d. Predictors: (constant), Log S, AM1-HOMO, AM1-dipole, glob,AM1-HF, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, vdw-vol.
- e. Predictors: (constant), Log S, AM1-dipole, glob,AM1-HF, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, vdw-vol.
- f. Predictors: (constant), Log S, AM1-dipole, glob, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, vdw-vol.
- g. Predictors: (constant), Log S, AM1-dipole, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, vdw-vol.
- h. Predictors: (constant), Log S, Log P (O/W), AM1-LUMO, ASA-H, Vol, AM1-Eele, vdw-vol.
- i. Predictors: (constant), Log S, Log P (O/W), ASA-H, Vol, AM1-Eele, vdw-vol.
- j. Predictors: (constant), Log S, Log P (O/W), ASA-H, AM1-Eele, vdw-vol.
- k. Predictors: (constant), Log S, Log P (O/W), AM1-Eele, vdw-vol.
- l. Predictors: (constant), Log P (O/W), AM1-Eele, vdw-vol.

- m. Predictors: (constant), Log P (O/W), vdw-vol.
- n. Predictors: (constant), vdw-vol.
- o. Predictors: (constant).

Nilai r (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara data aktivitas biologis pengamatan percobaan dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan yang diperoleh dari hasil analisis regresi. Koefisien korelasi adalah angka yang bervariasi mulai dari 0 sampai 1. Semakin tinggi nilainya maka semakin baik hubungannya. Untuk mendapatkan nilai koefisien korelasi yang dapat diterima tergantung pada jumlah data penelitian. Semakin banyak jumlah data penelitian maka semakin rendah koefisien korelasi atau nilai r yang dapat diterima. Dalam penelitian HKSA diusahakan dicapai suatu nilai r yang lebih besar dari 0,9.

Penelitian ini diperoleh bahwa jumlah kombinasi deskriptor yang paling minimal dapat digunakan yaitu 4 ($r = 0.926$ dan $R^2 = 0.853$), semakin sedikit jumlah deskriptor yang digunakan dalam kombinasi maka parameter yang digunakan dalam desain obat semakin sedikit sehingga mempermudah peneliti dalam meningkatkan aktivitas-aktivitas dengan mengganti substituren berdasarkan deskriptor yang terpilih. Sepuluh model persamaan terpilih dengan nilai r tertinggi kemudian divalidasi *leave one out* untuk memperoleh nilai q_2 .

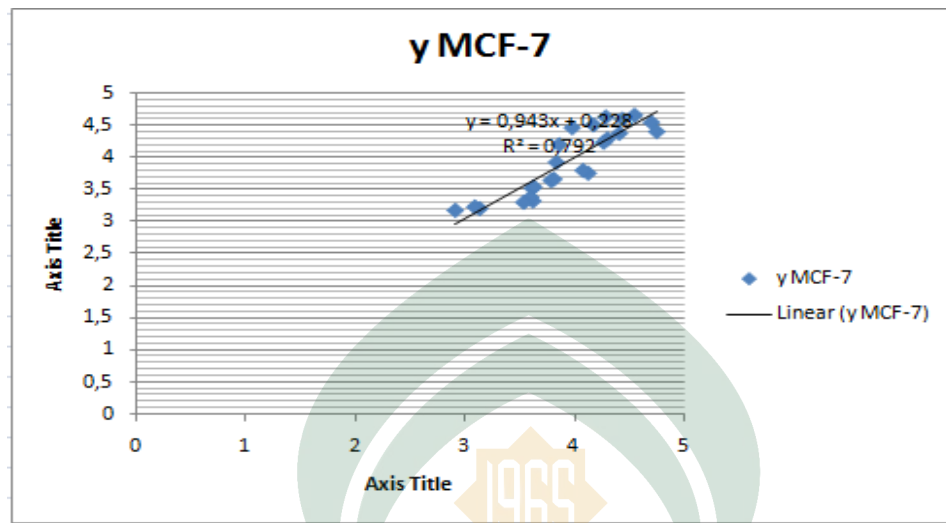
Nilai q_2 digunakan untuk menentukan model persamaan terbaik. Model persamaan harus memenuhi kriteria nilai $q_2 \geq 0,5$. Sepuluh model persamaan terpilih beserta nilai q_2 ditunjukkan pada tabel IV.2. Nilai q_2 , dalam hal ini, adalah selisih kesalahan bahwa model tidak sesuai. Nilai-nilai q_2 yang lebih dekat ke 1 menunjukkan kesalahan lebih kecil, dan nilai-nilai lebih kecil dari 1 menunjukkan kesalahan yang lebih besar. Pada tabel IV.2 menunjukkan nilai-nilai kriteria statistik

dari model persamaan yang memiliki nilai koefisien regresi (R^2) persamaan, koefisien regresi (R^2) kurva hubungan aktivitas eksperimen dengan aktivitas prediksi, dan validasi (q^2). Nilai q^2 digunakan untuk menentukan model persamaan terbaik. Model persamaan harus memenuhi kriteria nilai $q^2 \geq 0,5$. 10 Kombinasi deskriptor terbaik dengan nilai kriteria statistik dan validasi *leave one out* (q^2).

Tabel IV.2. Perbandingan Kriteria Statistik untuk menentukan persamaan terbaik.

PERS. KE-	R model persamaan	CV LOO (q^2)	R kurva MIC eksperimen vs MIC prediksi
1	0,926	0,789293616	0,792
2	0,926	0,782377266	0,783
3	0,925	0,771265447	0,774
4	0,925	0,70929665	0,717
5	0,92	0,745866992	0,749
6	0,916	0,748657349	0,751
7	0,915	0,698105038	0,689
8	0,915	0,694747284	0,707
9	0,915	0,653308649	0,669
10	0,914	0,67614245	0,689

Nilai q^2 adalah selisih kesalahan bahwa model tidak sesuai. Nilai-nilai q^2 yang lebih dekat ke 1 menunjukkan kesalahan lebih kecil, dan nilai-nilai yang lebih kecil dari 1 menunjukkan kesalahan yang lebih besar. Selanjutnya dilihat nilai R^2 kurva hubungan aktivitas eksperimen dan prediksi untuk mengetahui hubungan antara IC_{50} prediksi dan IC_{50} eksperimen.



Gambar IV.1. Kurva hubungan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi model persamaan terbaik

Tabel IV.2 menunjukkan nilai-nilai kriteria statistik dari model persamaan yang memiliki nilai koefisien regresi r^2 dan validasi silang *Leave One Out* q^2 dan di bawah ini adalah hasil nilai R^2 hubungan aktivitas prediksi dan eksperimen.

Tabel IV.3. Kombinasi deskriptor dengan nilai kriteria statistik dan validasi *Leave One Out* (q^2).

No	Jumlah deskriptor	Deskriptor	R	R ²	q ²	F	S (Sig.)	Std. Error of the Estimate	R kurva MIC eksperimen vs MIC prediksi
1	4	AM1_E, AM1-Eee, Glob, Log POW	0,926	0,858	0,789	28,765	7,9517	0,21795	0,792
2	4	AM1-E, AM1-Eee, Log	0,926	0,858	0,782	28,795	7,8841	0,21785	0,783

		Pow, VSA							
3	4	AM1-E, AM1- Eele, Mr , VSA	0,925	0,856	0,771	28,299	9,0637	0,21948	0,774
4	4	AM1_Eele , AM1- HF, Log Pow, Mr	0,925	0,855	0,709	28,102	9,5839	0,22014	0,717
5	4	AM1_E, AM1_Eele AM1- HOMO, Log-Pow	0,92	0,845	0,745	25,994	1,7810	0,22756	0,749
6	4	AM1_E, AM1_Eele AM1- LUMO, Log-Pow	0,916	0,84	0,748	24,859	2,5298	0,23188	0,751
7	4	AM1_E, AM1_HF, AM1_HO MO, Log S	0,915	0,837	0,698	24,452	2,8788	0,23349	0,689
8	4	AM1_dipo le, AM1- E, AM1- HOMO, Log-POW	0,915	0,838	0,694	24,511	2,83E-07	0,23326	0,707
9	4	AM1_Eele , AM1- HF, Log Pow, Vdw-vol	0,915	0,837	0,653	24,422	2,9064	0,23361	0,669
10	4	AM1_dipo le, AM1- HF, Vol, VSA	0,914	0,835	0,676	24,072	3,2527	0,23502	0,689

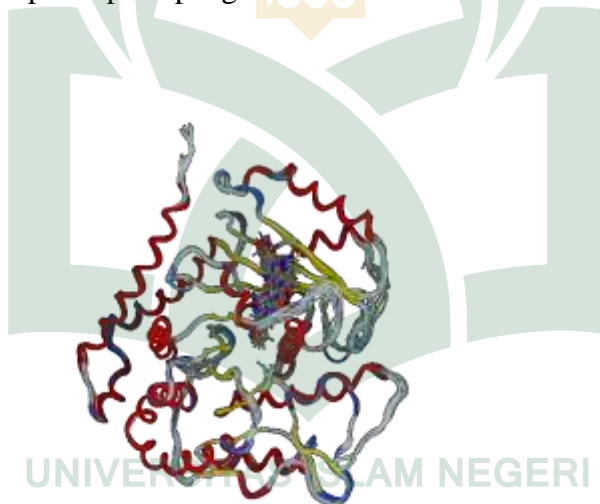
Dari sepuluh kombinasi empat deskriptor yang digunakan, persamaan yang dipilih berdasarkan kriteria-kriteria statistik di atas yaitu persamaan pertama pada tabel IV.3. dengan deskriptor antara lain AM1_E, AM1-Eele, Glob, Log POW. Regresi multinier terbaik yang berisi empat deskriptor ini menghasilkan korelasi yang baik dengan hasil eksperimen $R = 0,926$, $R_2 = 0,858$ dan validasi silang $q_2 0,789$. Adapun deskriptor terpilih pada persamaan terbaik di atas, yaitu: $\text{Log IC}_{50} = 8,660 - 0,000209 \text{ AM1-E} - 0,0000164 \text{ AM1_Eele} - 3,825 \text{ Glob} + 0,762 \log P (\text{O/W})$. Dari persamaan tersebut menunjukkan deskriptor-deskriptor yang berpengaruh antara lain AM1_E (energi total), AM1-Eele (energi elektronik), Glob (globulritas), Log P (O/W) (koefisien partisi) terhadap aktivitas senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methyindol-3yl)-benzimidazole. Globularitas sebagai rasio antara volume molekul dan luas permukaan; Koefisien partisi menggambarkan rasio pendistribusian obat kedalam pelarut sistem dua fase, yaitu pelarut organik dan air. Bila molekul semakin larut lemak, maka koefisien partisinya semakin besar dan difusi trans membran terjadi lebih mudah. Selain itu, organisme terdiri dari fase lemak dan air, sehingga bila koefisien partisi sangat tinggi ataupun sangat rendah maka hal tersebut akan menjadi hambatan pada proses difusi zat aktif.

Nilai R^2 menunjukkan % aktivitas biologis yang dapat dijelaskan hubungannya dengan parameter sifat kimia fisika yang digunakan. Nilai F kemaknaan hubungan. Makin besar nilai F, maka makin besar derajat kemaknaan hubungan. Nilai Fischer adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan, yang dinyatakan oleh persamaan yang diperoleh, adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Semakin tinggi nilai F semakin kecil kemungkinan hubungan tersebut adalah kebetulan. Nilai S (simpangan baku) menunjukkan nilai variasi kesalahan

dalam percobaan. Dari model persamaan yang terpilih, aktivitas senyawa turunan 1-benzene acyl-2-(methyindol-3yl)-benzimidazole dipengaruhi oleh deskriptor-deskriptor yaitu AM1_E, AM1-Eele, Glob, Log POW.

B. Penentuan Fitur Farmakofor dan Skrining Virtual

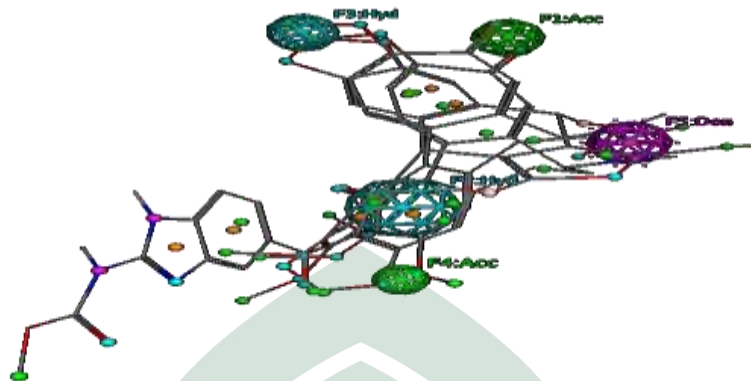
Tujuan dari penyusunan *query farmakofor* adalah untuk menjelaskan struktur 3D fitur senyawa-senyawa inhibitor polimerisasi tubulin dan antiproliferasi MCF-7 untuk pengikatan dengan reseptor dengan menghasilkan farmakofor dan untuk menentukan fitur struktur dari tubulin yang penting untuk aktivitas biologis dengan melihat residu asam amino yang berperan pada pengikatan.



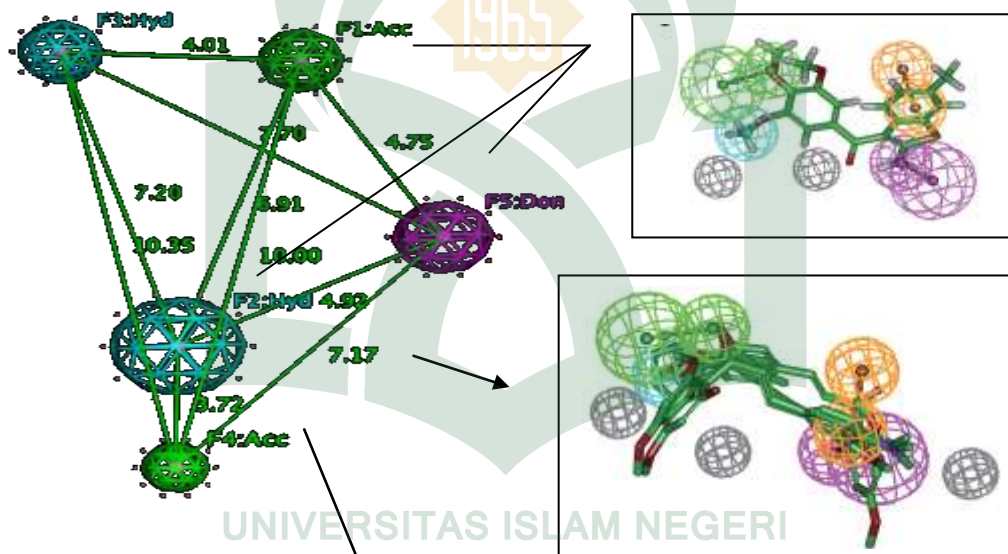
Gambar IV.4 skruktur 3 dimensi pengikatan ligan dengan protein (tubulin)

Untuk penyusunan farmakofor digunakan *Pharmacophore Query Editor* dan *Protein-Ligand Interaction Fingerprint* pada program MOE. Farmakofor hipotetik yang dihasilkan juga akan menjelaskan pengikatan ligan dalam situs pengikatan atau katalitik dari reseptor. Struktur kristal kompleks tubulin dan ligan telah lama diteliti. Terdapat 4 struktur senyawa yang telah dilaporkan dan dapat diunduh dari situs www.rcsb.org, yaitu 1SA1, 1SA0, 4O2B dan 5CA1.

Dengan menggunakan 4 struktur ligan-protein di atas, dapat dibuat sidik jari interaksi ligan-protein dengan cara membandingkan cara pengikatan masing-masing ligan terhadap residu asam amino pada sisi pengikatan protein. Interaksi seperti ikatan hidrogen, interaksi ionik, dan kontak permukaan yang diklasifikasikan sesuai dengan residu asal, dan dibangun dalam skema sidik jari yang merupakan representasi dari database dari kompleks liganprotein. Pembuatan fitur farmakofor ligan dapat dilakukan dengan menjalankan *Pharmacophore Query Editor*. Titik titik anotasi ligan kemudian akan muncul secara otomatis. Adapun titik anotasi ligan yang dipilih terdapat 5 titik anotasi. Gugus-gugus yang berperan penting sebagai farmakofor adalah gugus hydrogen-bond acceptor (F1 dan F4: Acc), hydrogen-bond donor (F5: Don), serta cincin aromatik dan methyl pada gugus metoksi yang hidrofobik (F2 dan F3: Hyd). Lima titik anotasi ligan tersebut dipilih karena banyaknya titik anotasi ligan yang bertumpuk pada titik tersebut dan berdasarkan jurnal hasil penelitian yang terpercaya yang dikenal bahwa farmakofor tersebut pada struktur senyawa yang bekerja pada target tubulin (colchicine, nocodazole, 1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxo-6,7-dibenzo[d]heptalen-7-yl ethanamide, dan lain-lain).

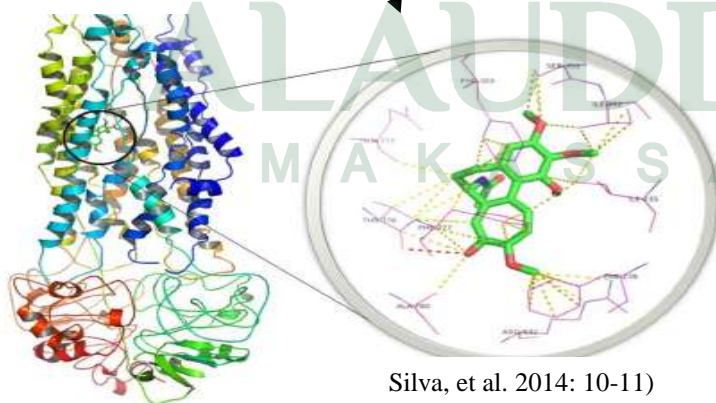


Gambar IV.4. *Query* farmakofoor



(Niu, et al.2014: 5)

Pharmacophore mapping of five hits. Pharmacophore features are color-coded: green, hydrogen bond acceptor (HBA); cyan, hydrophobic (HY); orange, ring aromatic (RA); magenta, hydrogen bond donor (HBD); gray, excluded volume (EV). All the compounds are color-coded by green. (Niu, et al. 2014: 9)



Silva, et al. 2014: 10-11)

Gambar IV.5. jarak fitur farmakofoor dalam *query* farmakofoor (Niu, et al.2014: 5 dan Silva, et al. 2014: 10-11).

Ligan-model farmakofor yang digunakan untuk mengidentifikasi fitur kimia dalam menghambat polimerisasi tubulin (*inhibiting tubulin polymerization*). Model farmakofor terbaik yang menghambat polimerisasi tubulin menurut Miao-mio NIU[#], Jing-yi QIN[#], Cai-ping TIAN, Xia-fei YAN, Feng-gong DONG, Zheng-qi CHENG, Guissi FIDA, Man YANG, Hai-yan CHEN, Yue-qing GU* dalam jurnal internasional yang berjudul “Tubulin Inhibitors: Pharmacopore Modeling, Virtual Screening and Molecular Docking” dari department of biomedical Engineering, school of Life Science and Technology, State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China (All rights reserved 1671-4083/14) adalah hydrogen-bond acceptor, a hydrogen-bond donor, a hydrofobic features, dan Ring aromatic features. (www.nature.com/aps).

Menurut Retana Silva, Helena Carmo, dan kawan-kawan dengan jurnal internasional penelitian yang berjudul “Cholcicine effect on P-Glycoprotein Expression and Activity: in silico and Invitro Studies” dari REQUIMTE, lboratorio de toxicologia, departamento de ciencias Biologicas Faculdade de farmacia, Universidade de Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313 dengan 3D-Model farmakofor dengan menggunakan modul Hypogem program katalist (*HypoGen Module of Catalist program*) di halaman 10 bahwa gugus penting (farmakofor) yang berperan diantaranya cincin benzene dan kelompok metoksi dalam fitur hidrofobik, sedangkan gugus karbonil dari kelompok amida sebagai Hydrogen-bond acceptor.

Pola ini selanjutnya digunakan untuk menguji 170.000 senyawa *natural product* yang telah diunduh dari zinc database apakah aktif atau tidak aktif dengan melihat kecocokan antara fitur-fitur farmakofor yang ada pada senyawa yang diunduh

dengan *query* farmakofor dengan lebih cepat, atau seberapa banyak atom atau gugus yang *hit* dengan *query* farmakofor. Proses virtual skrining digunakan untuk membantu menemukan senyawa-senyawa yang kemungkinan besar berpotensi sebagai obat, dengan membutuhkan waktu yang relatif singkat. Jika target telah diketahui, algoritma *docking* dapat digunakan untuk menempatkan kandidat obat ke dalam sisi aktif dari target seperti enzim atau reseptor.

Pada penelitian ini dilakukan proses virtual skrining terhadap senyawa kimia bahan alam yang diunduh dari situs zinc database. Dari proses tersebut diperoleh 8 senyawa kimia bahan alam yang *hits* dengan fitur farmakofor ligan yang memiliki interaksi dengan tubulin.



Gambar IV.7. Panel *Pharmacophore Search* (diperoleh 8 *hits*)

Dari delapan senyawa natural product yang *hits* kemudian didocking dengan metode placement: proxy triangle, Rescoring 1: ACE, Rescoring 2: Alpha HB, dan Refinement: forcefield.

tabel IV.4. database 8 macam senyawa natural prouck yang *hits*

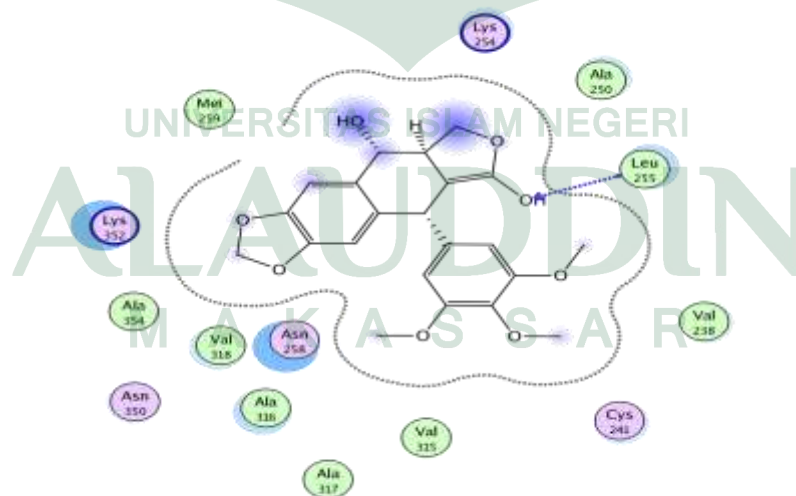
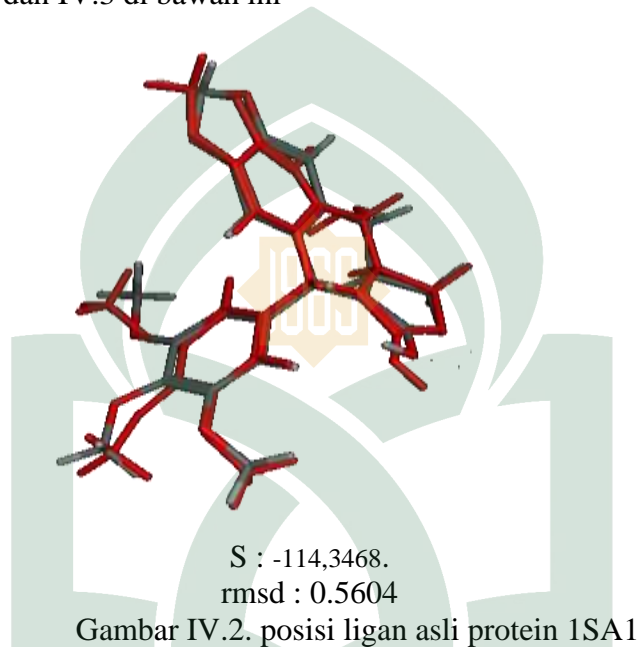
	mol
1	ZINC67912495
2	ZINC67903616
3	ZINC95098789
4	ZINC95099151
5	ZINC69482135
6	ZINC95914718
7	ZINC95912506
8	ZINC04098553

C. Docking Molekul

Docking smolekular dirancang untuk mencari konformasi ikatan yang tepat antara ligan dan reseptor. Molekul, dalam hal ini protein dan senyawa uji, yang akan *didocking* harus dipreparasi terlebih dahulu. Protein yang telah diunduh dari situs rcsb ditampilkan pada jendela MOE. Agar tidak mengganggu proses *docking*, molekul-molekul air sebaiknya dihilangkan sehingga dapat dipastikan bahwa molekul yang akan berinteraksi adalah senyawa uji dan protein. Selanjutnya dilakukan protonasi untuk menambahkan muatan atom dan hidrogen pada molekul. Struktur protein yang digunakan adalah struktur 1SA1. Tahap selanjutnya adalah tahap *docking* senyawa uji. Pada proses *docking* senyawa uji ini digunakan perangkat lunak MOE versi 2009. Proses simulasi *docking* senyawa-senyawa uji diawali dengan mengidentifikasi kantung atau sisi pengikatan dari enzim tersebut. Selanjutnya dengan fasilitas *simulation dock*, senyawa-senyawa uji sebagai ligan di-*docking*-kan pada reseptor, serta diarahkan pada sisi pengikatan yang sebelumnya telah diidentifikasi. Proses *docking* menggunakan ligan fleksibel dan reseptor *rigid* menggunakan metode placement (penempatan) Proxy Triangle, rescoring 1: ASE, dan rescoring 2: Alpha HB, dan refinement: Forcefield.

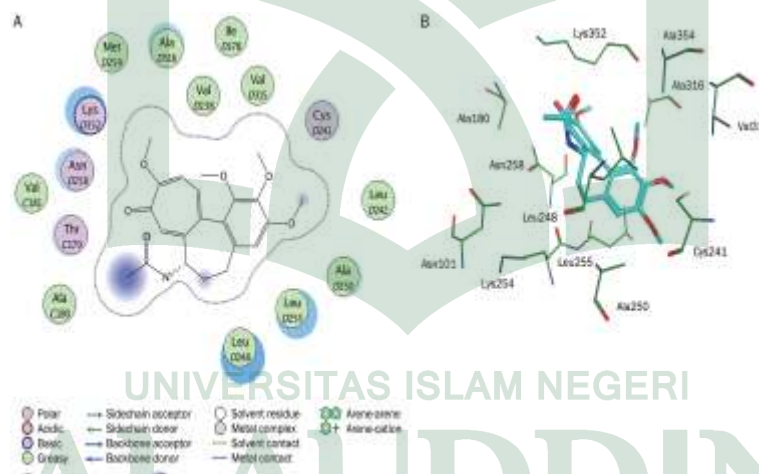
Validasi metode *docking* dilakukan dengan *redocking* native ligan pada sisi pengikatan. Didapatkan nilai rmsd (*root mean square deviation*) lebih kecil dari 2 yang berarti posisi ligan *copy* mirip dengan posisi ligan asli.

Lihat gambar IV.2 dan IV.3 di bawah ini



Gambar IV.3. Interaksi validasi ligan asli protein 1SA1

Menurut Miao-mio NIU[#], Jing-yi QIN[#], Cai-ping TIAN, Xia-fei YAN, Feng-gong DONG, Zheng-qi CHENG, Guissi FIDA, Man YANG, Hai-yan CHEN, Yue-qing GU* dalam jurnal internasional yang berjudul “Tubulin Inhibitors: Pharmacopore Modeling, Virtual Screening and Molecular Docking” dari departement of biomedical Engineering, school of Life Science and Technology, State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China (All rights reserved 1671-4083/14), menuliskan bahwa asam amino yang paling berperan dalam pengikatan ligan-protein tubulin adalah Leu255, Lys352, and Asn258 (Niu,dkk. 2014: 9). Dapat dilihat interaksi ligan (colchicine) yang berikatan dengan protein tubulin berdasarkan gambar di bawah ini.



Colchicine interacted strongly with critical amino acid residues including Leu255, Leu248, Lys352, and Asn258 in the colchicine-binding site of tubulin. Therefore, these amino acid residues were very important for inhibitor binding.

Gambar IV.6. Asam amino yang berperan dari interaksi ligan (colchicine) dengan tubulin (Niu,dkk.2014: 8).

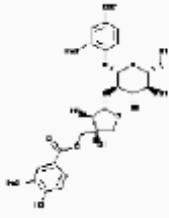
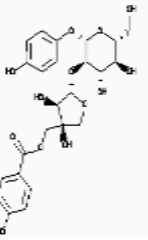
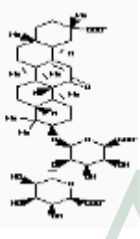
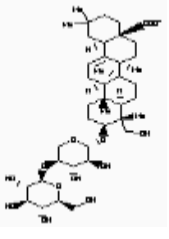
Tahap selanjutnya adalah tahap *docking* senyawa-senyawa uji. senyawa uji dimasukkan pada jendela MOE kemudian diprotonasi. Pada proses *docking* senyawa uji ini digunakan perangkat lunak MOE versi 2009. Analisa hasil *docking* molekuler dilihat dari kemiripan struktur, nilai S, dan interaksi antara ligan dengan enzim.

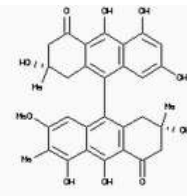
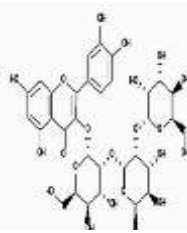
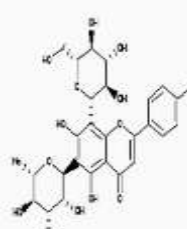
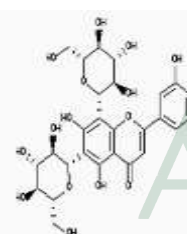
Ikatan hidrogen didefinisikan sebagai gaya intermolekul atau intramolekul yang terjadi antar atom yang memiliki nilai keelektronegatifan yang tinggi dengan atom hidrogen yang terikat secara kovalen pada suatu elektron elektronegatif (Imaniastuti, 2011 : 33-34). Kontak residu ikatan hidrogen pada asam amino yang terjadi pada kompleks protein-ligan dapat diidentifikasi dan dianalisis dalam program *ligan interaction* dengan menggunakan software MOE 2009.10. Interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor ditunjukkan dengan nilai *docking score* (S) makin rendah nilai S maka interaksi antara ligan dan reseptor makin kuat. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil dimana pada protein kode 1SA1 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan nilai *docking score* (S) : -114,3468.

D. Studi Bioavailabilitas

Terdapat empat parameter yang secara global dihubungkan dengan kelarutan dan permeabilitas, yaitu berat molekul, Log P, jumlah donor ikatan H dan jumlah akseptor ikatan H. Pada USAN (*United States Adopted Name*) ditemukan bahwa jumlah N dan O pada rumus molekul lebih besar dari 10 pada 12% senyawa yang ada. Sebelas persen senyawa memiliki berat molekul lebih dari 500. Sepuluh persen senyawa memiliki CLogP lebih besar dari 5 (atau MLogP lebih besar dari 4.15) dan pada 8% senyawa jumlah OH dan NH pada rumus kimia lebih besar dari 5. Aturan Lipinski atau disebut dengan rule of five merupakan parameter yang menunjukkan kemampuan bioavailabilitas oral suatu senyawa. Bioavailabilitas yang baik akan memenuhi aturan Lipinski dimana berat molekul senyawa maksimal 500Da, XlogP tidak lebih dari 5, donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, dan jumlah atom akseptor hidrogen seperti atom O dan N maksimal 10.

Tabel IV.5. Aturan lipinski dari 8 senyawa hits

Senyawa	Donor hidrogen	Akseptor hidrogen	Berat molekul (Da)	Senyawa XlogP	Jumlah Aturan Lipinski yang Dilanggar
 ZINC67912495	6	16	611,529	-0,48	3
 ZINC67903616	7	13	524,475	-0,29	3
 ZINC95098789	5	16	819,918	1,97	2
 ZINC95099151	7	13	765,958	2,56	3

 ZINC69482135	7	10	574,582	3,82	2
 ZINC95914718	14	22	788,661	-3,78	3
 ZINC95912506	10	14	578,523	-1,09	3
 ZINC04098553	12	16	610,521	-2,59	3

Keterangan:

Aturan lipinski:

0 = Tidak ada masalah terdeteksi

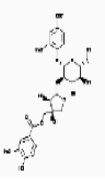
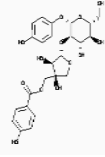
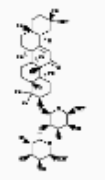
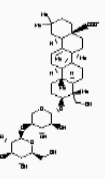
1-4 = Kemungkinan memiliki absorpsi dan permeasi yang sedang atau buruk.

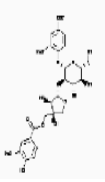
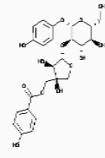
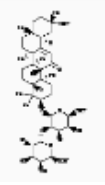
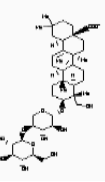
Dari tabel IV.5 Dapat dilihat dari 8 senyawa hasil *virtual screening* didapatkan 2 senyawa yang hanya memiliki 2 pelanggaran terhadap aturan Lipinski.

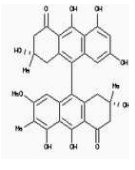
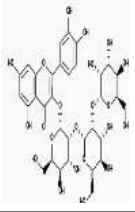
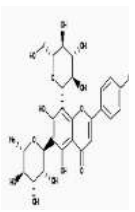
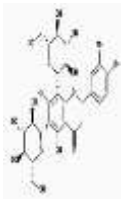
Sedangkan terdapat 6 senyawa yang melanggar 3 aturan lipinski sehingga kemungkinan memiliki absorpsi dan permeasi yang kurang baik. Oleh karena itu, dibutuhkan beberapa metode tertentu untuk meningkatkan bioavailabilitas senyawa tersebut.

E. Hasil Prediksi Toksisitas

Setelah memperoleh 8 senyawa hasil *virtual screening* yang diamati aturan Lipinski-nya, selanjutnya dilakukan prediksi toksisitas untuk kedelapan senyawa tersebut menggunakan perangkat lunak Toxtree yang dapat membantu melihat tingkat toksisitas dari sebuah senyawa dengan mengklasifikasikannya dalam bagian tertentu. Pada penelitian kali ini, parameter yang digunakan dari toxtree antara lain *cramer rules*, *The Benigni / Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity*, *Micronucleous assay in rodent*, *Cytochrome P450-mediated drug metabolism*, dan *Kroes TTC*. Dari parameter tersebut diharapkan bahwa senyawa yang diuji dapat dilihat tingkat toksisitasnya. Berdasarkan toxtree secara umum, kedelapan senyawa *hits* hasil *virtual screening* masuk dalam kelas 3 yaitu memiliki risiko toksisitas yang tinggi menurut aturan Kramer. Menurut Benigni/Bossa Rulebase, hanya senyawa ketiga ZINC95098798 yang bersifat genotoksik karsinogenik sedangkan ketujuh senyawa lainnya tidak bersifat genotoksik karsinogenik. Berdasarkan prediksi Kroes TTC, hanya senyawa ZINC95098798 memiliki risiko yang tinggi, sedangkan ketujuh senyawa lainnya memiliki risiko rendah. Secara umum, kedelapan senyawa *hits* hasil *virtual screening* dapat dimetabolisme pada sitokrom P450. Nilai dari masing-masing LD50 (toksisitas pada tikus), pLC50 (toksisitas pada ikan), dan pIGC50 (toksisitas *Tetrahymena Pyriformis*) dapat dilihat pada tabel IV.6.

Senyawa Utama	Crmer Rules	Alert For mn*	Benigni/ bossa Rulebasse	CYPs****	Kroes TTC	Rat Acute Toxicity (mol/kg)	Fish Toxicity (mg/L)	Tetrahymena Pyriformis (Toxicity ug/L)					
 ZINC6791245	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2.6270	1.2061	0.4693
 ZINC67903616	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2,2571	1.3435	0,3035
 ZINC95098798	3	√	1	√	9,1	√	1,2,3,4	-	1	√	2,0540	0,7996	1,0476
 ZINC95099151	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2,8271	1,1183	0.9470

Senyawa Utama	Crmer Rules		Alert For mn*		Benigni/ bossa Rulebasse		CYPs****		Kroes TTC		Rat Acute Toxicity (mol/kg)	Fish Toxicity (mg/L)	Tetrahymena Pyriformis (Toxicity ug/L)
 ZINC6791245	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2.6270	1.2061	0.4693
 ZINC67903616	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2,2571	1.3435	0,3035
 ZINC95098798	3	√	1	√	9,1	√	1,2,3,4	-	1	√	2,0540	0,7996	1,0476
 ZINC95099151	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2,8271	1,1183	0.9470

	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	3,1905	0,6638	1,6058
ZINC69482135													
	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2,1198	1,1965	0,2813
ZINC95914718													
	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	--	2,2213	0,9930	0,1972
ZINC95912506													
	3	√	2	-	8,9	-	1,2,3,4	-	2	-	2,1951	1,1546	0,1623
ZINC04098553													

Keterangan :

* *Micronucleous assay in rodent*

** *The Benigni / Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity*

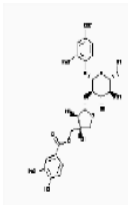
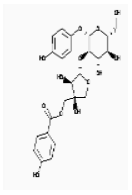
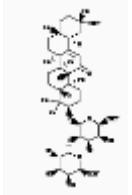
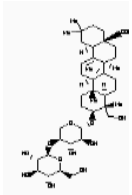
*** *Cytochrome P450-mediated drug metabolism*

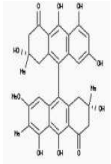
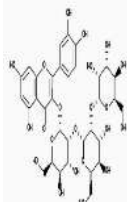
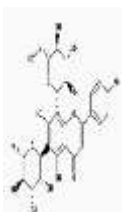
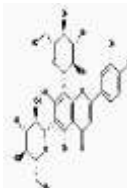
√ = Kurang baik

- = Baik

F. Hasil Prediksi Farmakokinetik

Tabel IV.7. Hasil prediksi farmakokinetik menggunakan PreADMET

Senyawa	BBB (Blood Brain Barriers) Penetration	HIA (Human Intestinal Absorption) (%)	Plasma Protein Binding	Skin Permeability	Caco2 cell permeability	MDCK permeability
 ZINC67912495	0.0441159	20.319330	52.577 423	-3.8654	16.3537	0.0630903
 ZINC67903616	0.0402539	35.669872	69.692 149	-4.09858	10.1838	0.044507
 ZINC95098789	0.0401223	21.356142	60.443 232	-3.8613	11.1333	0.044502
 ZINC95099151	0.0437625	20.794653	66.079 923	-4.41634	20.4288	0.0287389

	0.0414385	62.603882	100.00 0000	-4.46922	12.1014	3.41306
ZINC69482135						
	0.0252323	20.226142	61.333 244	-4.6613	13.1242	0.043121
ZINC95914718						
	0.0288975	4.204994	41.796 820	-4.71965	10.8428	0.200036
ZINC95912506						
	0.0277297	0.342438	48.887 550	-4.82919	10.4963	0.137377
ZINC04098553						

* *Blood Brain Barriers*, lebih dari 2.0 *high absorption to CNS*, 2.0 ~ 0.1 *middle absorption to CNS*, kurang dari 0.1 *low absorption to CNS*

** *Human Intestinal Absorption*, 0-20% *poorly absorbed compounds*, 20 ~ 70% *moderately absorbed compounds*, 70 ~ 100% *well absorbed compounds*

*** *Plasma Protein Binding*, lebih dari 90% *chemicals strongly bound*, kurang dari 90% *chemicals weakly bounds*

**** *Caco-2 cell permeability*, kurang dari 4 *low permeability*, 4 ~ 70 *middle permeability*, lebih dari 70 *high permeability*

Berdasarkan prediksi farmakokinetik, 8 senyawa *hits* hasil *virtual screening* memiliki persentase penyerapan usus (*Human Intestinal Absorption*) pada manusia

berkisar antara 30-70% (*middle absorption*) yang menandakan bahwa senyawa tersebut dapat diserap melalui usus, kecuali pada senyawa ZINC95912506 dan ZINC04098553 yang memiliki tingkat penyerapan pada usus yang kurang baik (*poorly absorbtion*). Sedangkan seluruh senyawa memperlihatkan permeabilitas yang sedang pada sel Caco-2. Sel Caco-2 merupakan turunan dari kolon adenokarsinoma manusia dan memiliki berbagai jalur transport obat melalui epitel usus. Penetrasi *Blood Brain Barrier* digambarkan sebagai $BB = [Brain]/[Blood]$, dimana $[Brain]$ dan $[Blood]$ merupakan kondisi keadaan tunak senyawa radiolabel pada otak dan perifer darah. Prediksi penetrasi BBB berarti memprediksi apakah senyawa dapat melewati pembatas otak-darak. Hal ini sangat penting pada lingkup farmasi karena senyawa aktif sistem saraf pusat harus dapat melewati pembatas ini sementara senyawa inaktif sistem saraf pusat tidak boleh melewatinya agar mencegah efek samping sistem saraf pusat. Seluruh senyawa memperlihatkan permeabilitas pada sawar darah otak (*Blood Brain Barriers*) yang kurang baik (*low absorption*) karena menunjukkan angka kurang dari 0.1 yang berarti senyawa ini memiliki absorpsi yang rendah pada sistem saraf pusat. Umumnya, hanya obat yang tidak berikatan yang tersedia untuk difusi atau transpor melalui membran sel, dan juga untuk interaksi dengan target farmakologi. Oleh karena itu, derajat pengikatan protein plasma obat mempengaruhi tidak hanya pada aksi obat tapi juga disposisi dan efikasinya. Dari tabel terlihat hanya Senyawa ZINC69482135 yang menunjukkan persen pengikatan diatas 90% yang berarti bahwa senyawa tersebut terikat kuat pada protein plasma (*chemicals strong bounds*), sedangkan ketujuh senyawa tersebut menunjukkan persen pengikatan kurang dari 90% yang berarti bahwa senyawa tersebut tidak terikat kuat pada protein plasma (*chemicals weakly bounds*).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas senyawa turunan 1-benzene acyl (1-methylindol-3-yl)-benzimidazole sebagai inhibitor polimerisasi tubulin dan antiprolifesi MCF-7 menunjukkan bahwa deskriptor yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa dengan persamaan terbaik $\text{Log Log IC}_{50} = 8,660 - 0,000209 \text{ AM1-E} - 0,0000164 \text{ AM1_Eele} - 3,825 \text{ Glob} + 0,762 \text{ log P (O/W)}$.
2. Model interaksi senyawa yang hits hasil virtual screening terhadap situs pengikatan (*binding site*) terhadap tubulin, Asam amino yang berperan diantaranya Asn258, Lys352, Leu255. Interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor ditunjukkan dengan nilai docking score (S), makin rendah nilai S maka interaksi antara keduanya makin kuat. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil dimana pada protein kode 1SA1 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan nilai docking score (S) -114,3468.
3. Adapun query farmakofor yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor memiliki fitur gugus gugus-gugus hydrogen-bond acceptor (F1 dan F4: Acc), hydrogen-bond donor (F5: Don), serta cincin aomatik dan methyl pada gugus metoksi yang hidrofobik (F2 dan F3: Hyd).
4. Senyawa-senyawa *natural product* hasil *virtual screening* yang berpotensi sebagai inhibitor *polimerisasi tubulin* dan *antiprolifesi MCF-7* berdasarkan fitur farmakofor senyawa turunan Benzimidazole adalah ZINC67912495,

ZINC067903616, ZINC95098789, ZINC95099151, ZINC69482135, ZINC95914718, ZINC95912506, ZINC04098553.

5. berdasarkan prediksi toksisitas diperoleh senyawa ZINC95098798 yang bersifat genotoksik karsinogenik sedangkan ketujuh senyawa lainnya tidak bersifat genotoksik karsinogenik. Berdasarkan prediksi Kroes TTC, hanya senyawa ZINC95098798 memiliki risiko yang tinggi, sedangkan ketujuh senyawa lainnya memiliki resiko rendah. Sedangkan Berdasarkan prediksi farmakokinetik, 8 senyawa *hits* hasil *virtual screening* memiliki persentase penyerapan usus (*Human Intestinal Absorption*) pada manusia berkisar antara 30-70% (*middle absorption*) yang menandakan bahwa senyawa tersebut dapat diserap melalui usus, kecuali pada senyawa ZINC95912506 dan ZINC04098553 yang memiliki tingkat penyerapan pada usus yang kurang baik (*poorly absorption*). Selain itu, Senyawa ZINC69482135 yang menunjukkan persen pengikatan diatas 90% yang berarti bahwa senyawa tersebut terikat kuat pada protein plasma (*chemicals strong bounds*).

B. Implikasi Penelitian

1. Penelitian ini memberikan implikasi baik terhadap pihak institusi maupun pemerintah dan diharapkan penelitian ini berguna untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya sebagai upaya untuk mendapatkan senyawa-senyawa sebagai obat kanker. Hasil prediksi aktivitas melalui studi HKSA ini diharapkan berguna dalam menentukan senyawa turunan obat anti kanker payudara yang dapat disintesis dan diuji lebih lanjut.
2. Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mendesain senyawa turunan 1-benzene acyl (1-methylindol-3-yl)-benzimidazole yang baru

dengan aktivitas yang lebih baik dengan menggunakan deskriptor-deskriptor lain agar diperoleh persamaan lain yang mungkin lebih baik.



KEPUSTAKAAN

- Abate, Carmen; Ferorelli, Savina; Contino, Marialessandra; Marottoli, Roberta; Colabufo, Nicola Antonio; Perrone, Roberto; Berardi, Francesco. "Arylamides hybrids of two high-affinity σ_2 receptor ligands as tools for the development of PET radiotracers". *European Journal of Medicinal Chemistry* 46, no. 9 (2011): h. 4733–4741.
- Abate, Carmen; Selivanova, Svetlana V.; Muller, Adrienne; Kramer, Stefanie D.; Schibli, Roger; Marottoli, Roberta; Perrone, Roberto; Berardi, Francesco; Niso, Mauro; Ametamey, Simon M. "Development of 3,4-dihydroisoquinoline-1(2H)-one derivatives for the Positron Emission Tomography (PET) imaging of σ_2 receptors". *European Journal of Medicinal Chemistry* 69 (2013): h. 920–930.
- Abraham, D.J. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6th Edition Volume 5: Chemotherapeutic Agents*. A John Wiley and Sons Inc, Virginia: 2003.
- Al-Jauziyah, Ibnu Qayyim. *Praktek Kedokteran Nabi*. Jogjakarta: Hikam Pustaka, 2002.
- American Cancer Society. *Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014*. Atlanta: American Cancer Society Inc., 2013.
- Banister, Samuel D.; Rendina, Louis M.; Kassiou, Michael. "7-azabicyclo[2.2.1]heptane as a scaffold for the development of selective sigma-2 (σ_2) receptor ligands". *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter* 22, no. 12 (2012): h. 4059–4063.
- Boyd, Norman F.; Martin, Lisa J.; Bronskill, Michael; Yaffe, Martin J.; Duric, Neb; Minkin, Salomon. "Breast Tissue Composition and Susceptibility to Breast Cancer". *Journal of National Cancer Institution Review* 102, no. 16 (2010): h. 1224–1237.
- Chen, Jin-Qiang, and Russo, Jose. "ER α -Negative and Triple Negative Breast Cancer: Molecular Features and Potential Therapeutic Approaches". *Biochimica Biophysica Acta* 1796, no. 2 (2009): h. 162–175.
- Crawford, Keith W.; Bowen, Wayne D. Sigma-2 Receptor Agonists Activate a Novel Apoptotic Pathway and Potentiate Antineoplastic Drugs in Breast Tumor Cell Lines. *Cancer Research* 62, no. 1 (2002): h. 313–322.
- Crawford, Keith W.; Coop, Andrew; Bowen, Wayne D. " σ_2 Receptors regulate changes in sphingolipid levels in breast tumor cells". *European Journal of Pharmacology* 443, no. 1–3 (2002): h. 207–209.

- Departemen Agama RI. *Alquran dan Terjemahannya*. Semarang: PT. Karya Toha Putra, 2005.
- Fan, Kuo-Hsien; Lever, John R.; Lever, Susan Z. "Effect of structural modification in the amine portion of substituted aminobutyl-benzamides as ligands for binding σ_1 and σ_2 receptors". *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19, no. 6 (2011): h. 1852–1859.
- Gao H.; Nishida J.; Saito S.; Kawabata J., "Effect of 5,6,7-Trihydroxyflavones on Tyrosinase". *Molecules* 12, no. 1 (2007): h. 90.
- Gitto, Rosaria; Luca, Laura De; Ferro, Stefania; Scala, Angela; Ronsisvalle, Simone; Parenti, Carmela; Prezzavento, Orazio; Buemi, Maria Rosa; Chimirri, Alba. "From NMDA receptor antagonists to discovery of selective σ_2 receptor ligands". *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22, no. 1 (2014): h. 393–397.
- Harmanto, Ning. *Ibu Sehat dan Cantik dengan Herbal*. Jakarta: Pt Elex Media Komputindo, 2006.
- Hetadi, Abdul. *Pengantar Kimia Komputasi*. Jakarta: Aesculapius, 2011.
- Izzan, Ahmad. *Sakitku Ibadahku*. Jakarta: PT. Niaga Swadaya, 2010.
- Kubinyi, Hugo. *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*. Weinheim; New York; Basel; Cambridge; Tokyo: VCH, 1993.
- Lindsey, J. S. "A retrospective on automation of laboratory syntethic chemistry". *Chemometric Intelligent Laboratory System* 17, no. 1 (1992): h. 15–45.
- Lo, Pang-Kuo, and Sukumar, Saraswati. "Epigenomics and breast cancer". *Pharmacogenomics* 9, no. 12 (2008): h. 1879–1902.
- Mach, Robert H.; Zeng, Chenbo; Hawkins, William G. "The σ_2 Receptor: A Novel Protein for the Imaging and Treatment of Cancer". *Journal of Medicinal Chemistry* 56, no. 16 (2013): h. 7137–7160.
- Marrazzo, Agostino; Cobos, Enrique J.; Parenti, Carmela; Arico, Giuseppina; Marrazzo, Giuseppina; Ronsisvalle, Simone; Pasquinucci, Lorella; Prezzavento, Orazio; Colabufo, Nicola A.; Contino, Marialessandra; Gonzales, Luis G.; Scoto, Giovanna M.; Ronsisvalle, Giuseppe. "Novel Potent and Selective σ Ligands: Evaluation of Their Agonist and Antagonist Properties". *Journal of Medicinal Chemistry* 54, no. 10 (2011): h. 3669–3673.
- Maysaroh, Hanik. *Kupas Tuntas Kanker Pada Perempuan dan Penyembuhan*. Klaten: Trimedia Pustaka, 2013.
- Mansjoer, Arief, dkk. *Kapita Selekt Kedokteran Edisi Ketiga jilid 2*. Jakarta: Media Aesculapus, 2000.

- Mohan, V. "Docking: Successes and Challenges". *Current Pharmacist Design* 11, no. 3 (2005): h. 323–333.
- Montazeri, Ali. "Health-related quality of life in breast cancer patients: A bibliographic review of the literature from 1974 to 2007". *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 27, no. 32 (2008): h. 1–31.
- Mulyani, Nina Siti dan Nuryani. *Kanker Payudara dan PMS pada Kehamilan*. Yogyakarta: Nuha Medika, 2013.
- Muslimin, Ashabul. *Hadith Bukhari Terjemahan*. <http://www.indoquran.com/id/> (Desember 2011).
- Niu, dkk. 2014. *Tubulin Inhibitors: Pharmacopore Modeling, Virtual Screening and Molecular Docking*. China: Departement of Biomedical Engineering.
- Nogredy, Thomas. *Kimia Medisinal Terbitan kedua*. Bandung: ITB, 1992.
- Patrick, Graham L. *An Introduction to Medicinal Chemistry* Fourth Edition. New York: Oxford University Press Inc., 2009.
- Pronowo, Harno Dwi. 2011. *Pengantar Kimia Komputasi*. Bandung: CV. Lubuk Agung.
- Prota, Andrea E., dkk. — 2013. *Structural Basis of Microtubule Stabilization by Laulimalide and Peloruside A*. New Zealand: Schools of Biological Sciences and Chemical and Physical Sciences Centre for Biodiscovery, Victoria University of Wellington Wellington.
- Rasjidi, Imam. *Deteksi Dini dan Pencegahan Kanker Payudara*. Bandung: Sagung seto, 2009.
- Sandina, Dewi. *9 Penyakit Mematikan*. Jogjakarta : Smart Pustaka, 2011.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an*, vol. 3. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- , *Tafsir Al Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an*, vol. 5. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- , *Tafsir Al Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an*, vol. 11. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Siegel, Rebecca; Naishadham, Deepa; Jemal, Ahmedin. "Cancer Statistics, 2013". *Canadian Cancer Journal of Clinical* 63, no. 1 (2013): h. 11–30.

- Silva, Renata dkk. 2014. *Cholcicine effect on P-Glycoprotein Expression and Activity: in silico and Invitro Studies*. Departement de ciANCHIAS Biologicas.
- Sudiana, I Ketut. *Patobiologi Molekuler Kanker*. Jakarta: Salemba Medika, 2008.
- Hidayat, Dani. *Tafsir Jalalain*. Tasikmalaya: Pesantren Persatuan Islam 91, 2010.
- Thurston, David E. *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*. New York: CRC Press, 2007.
- Tjindarbumi, Didid; Mangunkusumo, Rukmini. "Cancer in Indonesia, Present and Future". *Japanese Journal of Clinical Oncology* 32, no. 1 (2002): h. 17–21.
- Tu, Zhude; Xu, Jinbin; Jones, Lynne A.; Li, Shihong; Dumstroff, Craig; Vangveravong, Suwanna; Chen, Delphine L.; Wheeler, Kenneth T.; Welch, Michael J.; Mach, Robert H. "Flourine-18-Labeled Benzamide Analogues for Imaging the σ_2 Receptor Status of Solid Tumors with Positron Emission Tomography". *Journal of Medicinal Chemistry* 50, no. 14 (2007): h. 3194–3204.
- Vangveravong, Suwanna; Xu, Jinbin; Zeng, Chenbo; Mach, Robert H. "Synthesis of N-substituted 9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3 α -yl carbamate analogsas σ_2 receptor ligands". *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 14, no. 20 (2006): h. 6988–6997.
- Verma, Jitender; Khedkar, Vijay M.; Coutinho, Evans C. "3D-QSAR in Drug Design- A Review". *Current Topics in Medicinal Chemistry* 10, no. 1 (2010): h. 95–115.
- Wang, Yang-Ting, Ya-Juan Qin, Ya-Liang Zhang, chang-Hong Liu, Hai-Liang Zhu. *Synthesis, Biological Evaluation, and Molekular Docking studies of Novel 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole Derivatives as Potential Tubulin Polimeritation Inhibitor and For The cytotoxicity against anthripic cancer cell lines, no.1 (2015): h. 1-54.*
- Yang-Ting Wang, dkk. 2015. *Synthesis, Biological Evaluation, and Molekular Docking studies of Novel 1 benzene acyl-2-(1-methylindol-3-yl)-benzimidazole Derivatives as Potential Tubulin Polimeritation Inhibitor and For The cytotoxicity against anthripic cancer cell lines*. China: Departemant of Biochemistry.
- Camille Georges Wermuth (Ed.), 2008. *The Practice of Medicinal Chemistry*, Elsevier : London . pp. 99.
- Winkler, David A. "The role of quantitative structure-activity relationships (QSAR) in biomolecular discovery". *Briefings in Bioinformatics* 3, no. 1 (2002): h. 73–86.

World Health Organization. *Guidelines for the early detection and screening of breast cancer*. Eastern Mediterranean: EMRO Technical Publications Series 30, 2006.

----- . *Guidelines for management of breast cancer*. Eastern Mediterranean: EMRO Technical Publications Series 31, 2006.

Xu, Jinbin; Tu, Zhude; Jones, Lynne A.; Vangveravong, Suwanna; Wheeler, Kenneth T.; Mach, Robert H. “[³H]N-[4-(3,4-dihydro-6,7-dimethoxyisoquinolin-2(1H)-yl)butyl]-2-methoxy-5-methylbenzamide: A novel sigma-2 receptor probe”. *European Journal of Pharmacology* 525, no. 1–3 (2005): h. 8–17.

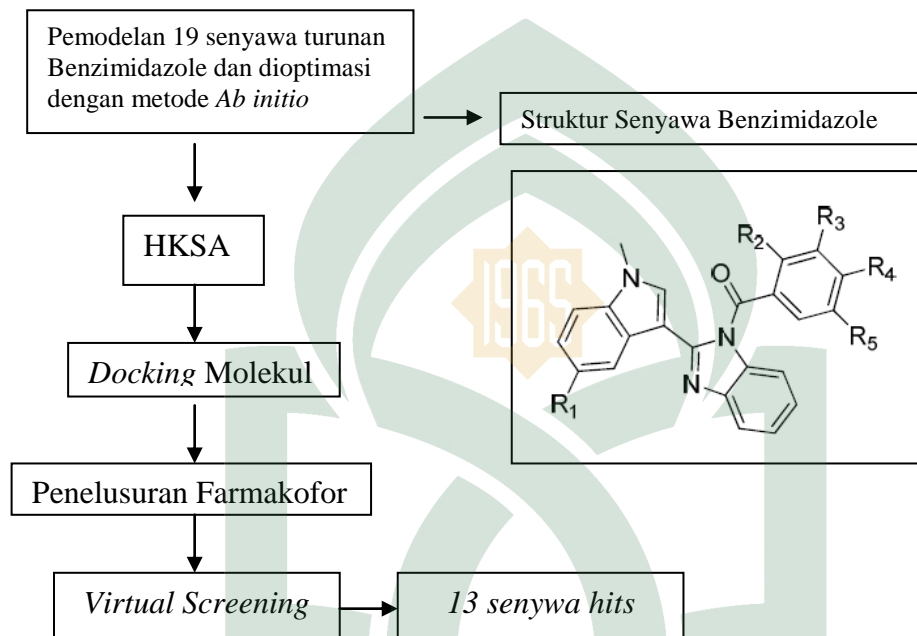
Xu, Rong; Lever, John R.; Lever, Susan Z. ”Synthesis and in vitro evaluation of tetrahydroisoquinoliny benzamides as ligands for σ receptors”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter* 17, no. 9 (Februari 2007): h. 2594–2597.



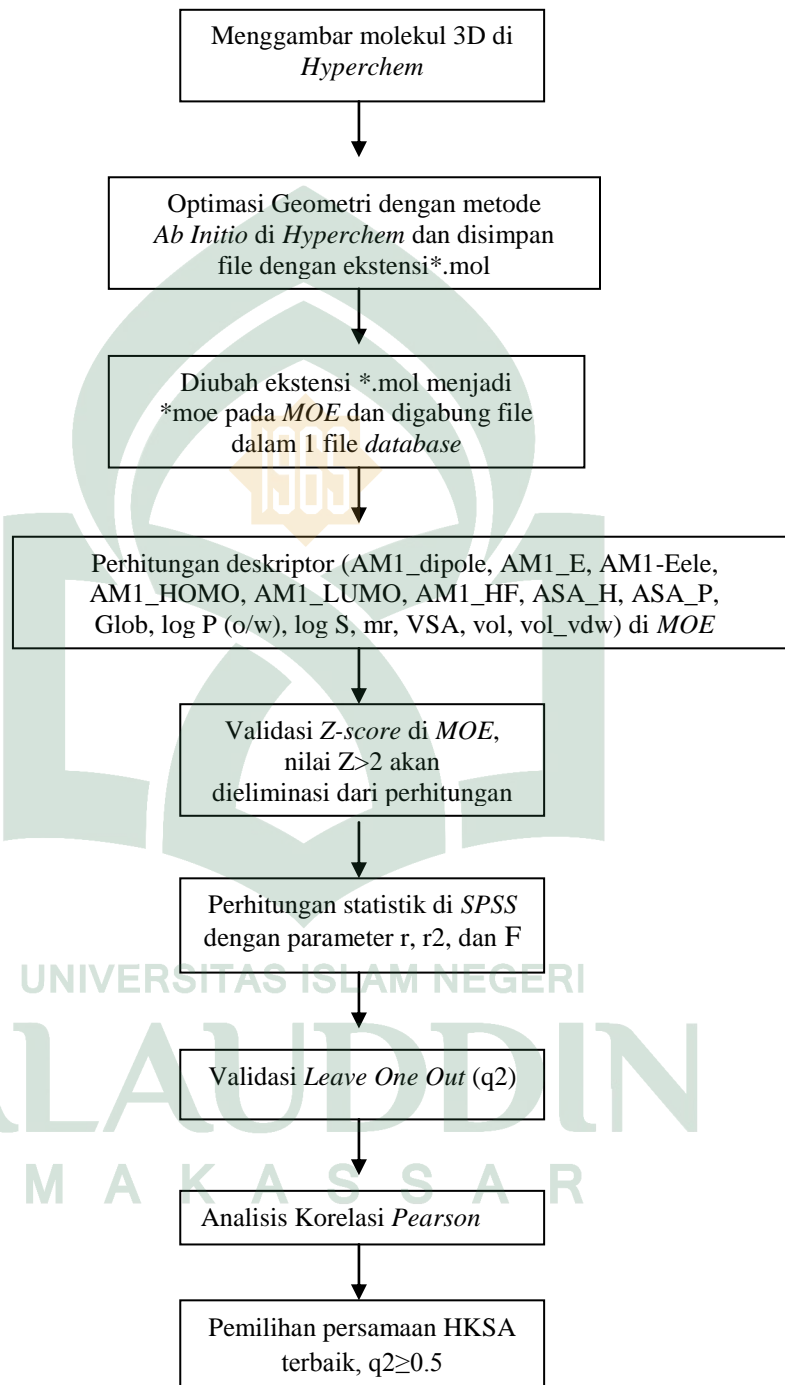
LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran I. Skema Kerja

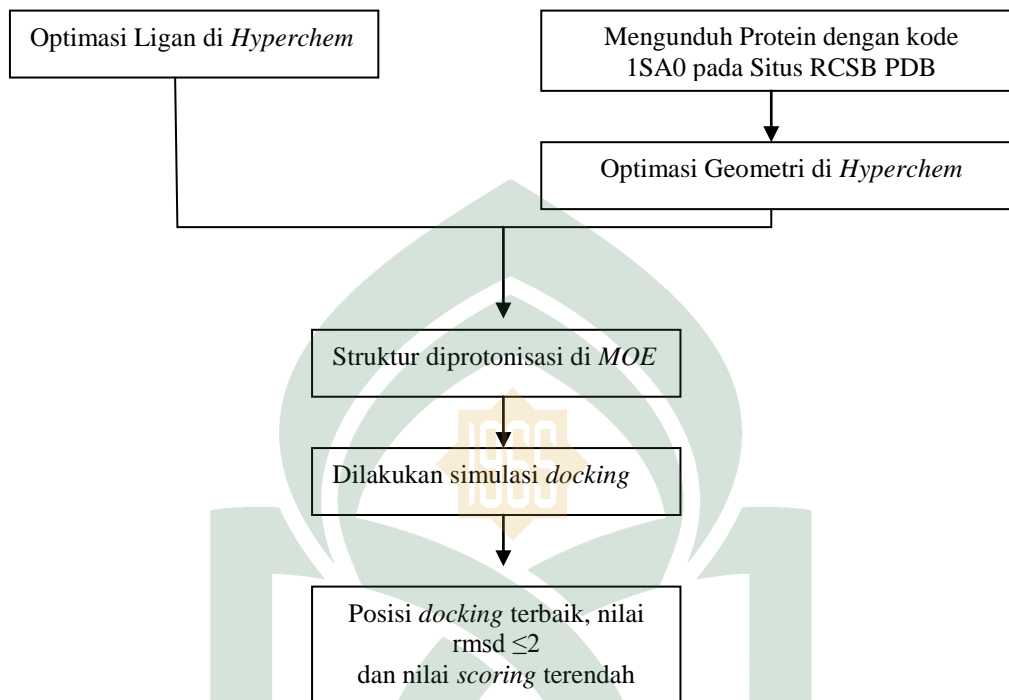
a. Alur Penelitian



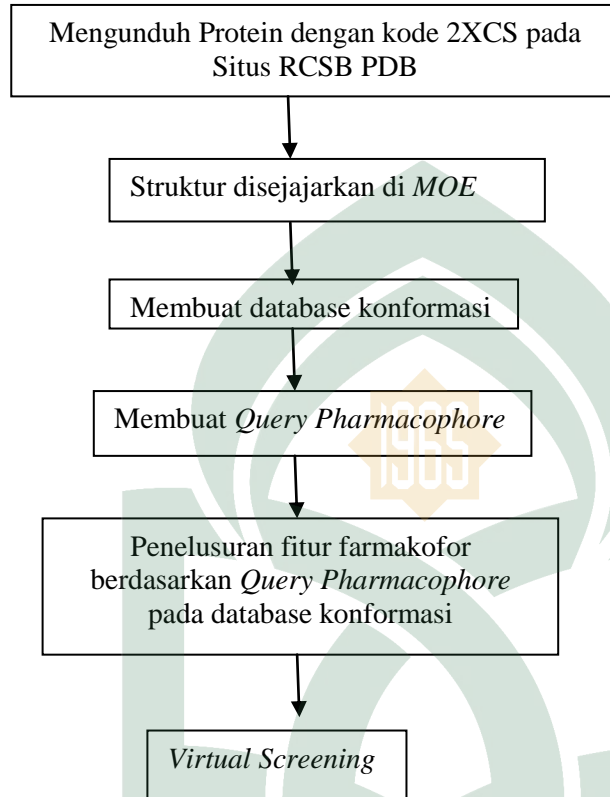
b. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas



c. Docking Molekul



d. Penelusuran Farmakofor



Lampiran II. Nilai deskriptor senyawa turunan 1-benzene acyl (1-methylindol-3-yl)-benzimidazole

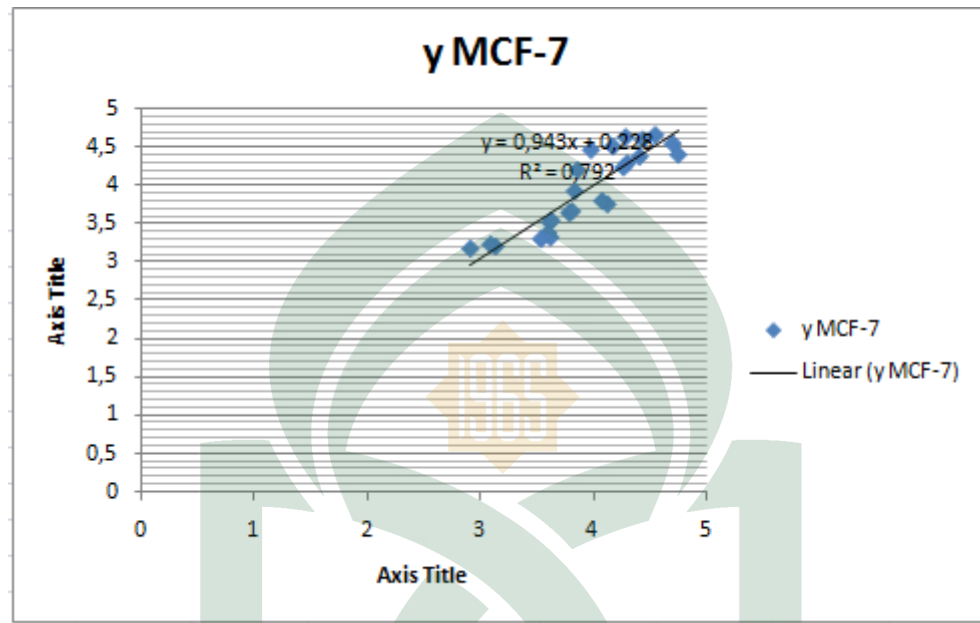
AM1 dipole	AM1 E	AM1 Eele	AM1 HF	AM1 HOMO	AM1 LUMO	ASA H	ASA P	glob	logP(o/w)	logS	mr	vdw vol	vol	VSA
3,782371	-95546,2	-775055	138,404	-8,08668	-0,39954	587,371	0	0,195272	4,842	-5,06317	10,6116	499,608	357,6	377,351
4,919313	-106515	-888143	105,563	-7,9263	-0,37401	634,334	0	0,198853	4,796	-5,11355	11,2756	534,698	380,9	406,28
4,844584	-106519	-891951	101,442	-8,06165	-0,35032	612,307	0	0,268059	4,835	-5,11355	11,2719	534,698	379,6	405,223
3,889663	-106521	-885939	99,8429	-8,06991	-0,37914	619,878	0	0,224613	4,798	-5,11355	11,2719	534,698	381,3	403,587
5,746123	-116858	-989590	68,0062	-8,36886	-0,5377	645,812	0	0,245047	5,22974	-6,82413	12,001	563,887	402,3	430,791
4,349591	-127829	-1132100	46,9699	-8,3286	-0,57979	672,262	0	0,313378	4,97248	-6,87451	12,6501	598,978	428	461,24
1,885569	-99144,3	-756823	160,525	-8,13974	-0,78478	589,524	0	0,145925	5,937	-7,91975	10,9781	496,649	349,4	359,142
1,574003	-102729	-802888	162,171	-8,10399	-0,78724	624,758	0	0,153954	6,366	-7,81376	11,4349	522,694	369	383,512
2,892681	-105872	-861843	118,787	-8,02327	-0,59439	630,457	0	0,166756	5,524	-6,77375	11,346	528,797	371,6	387,942
4,173059	-116843	-978528	83,196	-7,95031	-0,52589	669,522	0	0,179747	5,478	-6,82413	12,001	563,887	394,3	416,105
3,393493	-116845	-968553	81,5017	-8,01225	-0,58359	672,872	0	0,207552	5,517	-6,82413	11,9973	563,887	395,5	416,261
3,797156	-116846	-969955	80,4075	-7,99318	-0,54997	676,673	0	0,202204	5,48	-6,82413	11,9973	563,887	396,3	416,633
4,07195	-127816	-1090805	46,4809	-8,00858	-0,57388	706,045	0	0,199132	5,22274	-6,87451	12,6464	598,978	421,5	444,763
4,056233	-138780	-1237579	17,4639	-7,96864	-0,77889	735,737	0	0,207676	4,96548	-6,92489	13,2915	634,068	447	471,769
2,67391	-113700	-918975	126,982	-8,06838	-0,78269	660,601	0	0,170401	6,32	-7,86414	12,1025	557,784	395,8	410,644
9,335281	-113652	-916895	174,94	-6,8719	-2,11778	664,181	0	0,208614	6,359	-7,86414	12,0988	557,784	395,6	411,985
3,844836	-102730	-803573	161,276	-8,16867	-0,69903	624,936	0	0,153755	6,366	-7,81376	11,4349	522,694	369,9	385,017
4,898896	-113701	-918029	125,621	-8,09381	-0,62731	666,493	0	0,148957	6,32	-7,86414	12,1025	557,784	397,9	413,118
3,858105	-113703	-907958	123,954	-8,15407	-0,6837	669,256	0	0,159532	6,359	-7,86414	12,0988	557,784	396	413,988
4,640262	-113704	-909647	122,909	-8,13634	-0,65254	671,209	0	0,168857	6,322	-7,86414	12,0988	557,784	394,5	412,915
3,847977	-124674	-1028912	88,8809	-8,16035	-0,67876	707,433	0	0,163144	6,06474	-7,91452	12,7561	592,875	422,5	440,139
6,249308	-135589	-1180860	126,413	-6,86819	-2,05569	720,531	0	0,192608	5,80748	-7,9649	13,4073	627,966	445,6	467,156
3,291919	-110558	-859623	169,478	-8,2184	-0,82862	655,863	0	0,155879	7,162	-8,90415	12,1563	551,681	397,1	406,904
3,216881	-110561	-852842	166,994	-8,25651	-0,84414	664,355	0	0,159576	7,201	-8,90415	12,1525	551,681	395,1	410,619

M A K A S S A R

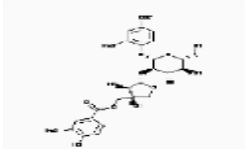
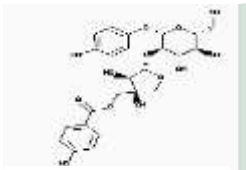

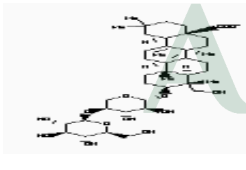
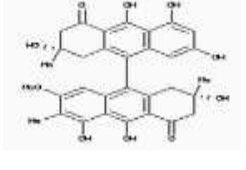
Lampiran III. Nilai perbandingan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi

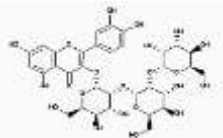
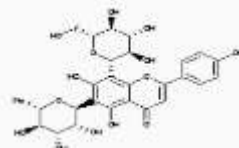
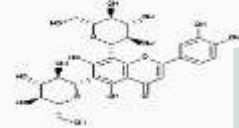
y' (y eksperimen)	y MCF-7 (y prediksi)
4,401296	4,3766
2,349235	4,2014
3,776535	3,6435
3,600759	3,6629
3,60179	3,3222
2,120748	3,2041
4,278098	4,6325
4,696802	4,5465
4,292465	4,2923
2,824945	3,9243
2,602515	3,5185
2,615909	3,5441
2,076105	3,2304
2,696232	3,1761
4,162393	4,5092
2,96235	4,4654
4,744408	4,4031
4,258421	4,236
4,115545	3,7559
4,069673	3,7993
2,516619	3,3802
2,524025	3,301
4,541159	4,659
4,420912	4,5988

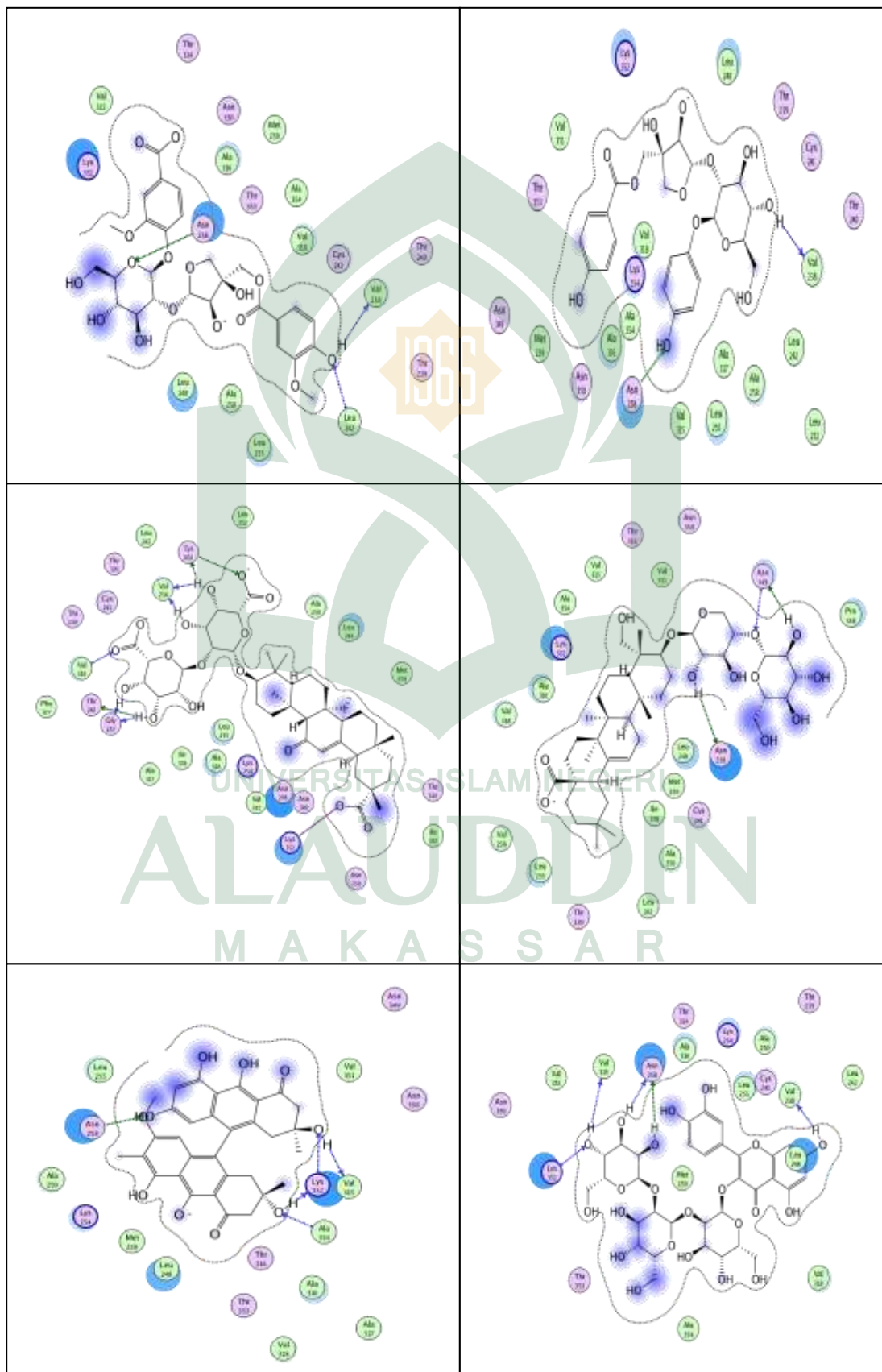
Lampiran IV. Kurva hubungan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi model persamaan terbaik



Lampiran V. Hasil *Docking* Molekul Senyawa Natural Product yang *Hits* bekerja pada Target Tubulin dengan Protein 1SA1

Senyawa	Docking Score (S) (kkal/mol)	Ikatan		Residu asam amino yang terikat	Gugus yang berikatan
		Jenis	jumlah		
 ZINC67912495	-153.9911	Hidrogen	3	Asn258 Val238 Leu242	O ^{Acc} dari gugus aromatik, O ^{Acc} dari gugus metoksi, dan H ^{don} dari gugus metoksi
 ZINC67912495	-144.8524	hidrogen	2	Asn258 Val238	O ^{Acc} dari gugus aromatik, O ^{Acc} dari gugus metoksi, dan H ^{don} sebagai donor proton
 ZINC67912495	-138.0670	hidrogen	6	Val238 Tyr202 Gly237 Thr240 Val318 Lys352	O ^{Acc} sebagai atom penerima proton, dan H ^{don} sebagai donor proton
 ZINC67912495	-121.6168	hidrogen	4	Asn258 Asn349	O ^{Acc} sebagai atom penerima proton, dan H ^{don} sebagai donor proton
 ZINC67912495	-132.2605	hidrogen	5	Lys352 Ala354 Val315	O ^{Acc} sebagai atom penerima proton, dan H ^{don} sebagai donor proton

 <p>ZINC67912495</p>	-183.4210	hidrogen	5	Va315 Lys352 Val238	O ^{Acc} sebagai atom penerima proton , dan H ^{don} sebagai donor proton
 <p>ZINC67912495</p>	134.3851	hidrogen	4	Asn350 Val315 Ala317 Asn258	O ^{Acc} sebagai atom penerima proton , dan H ^{don} sebagai donor proton
 <p>ZINC67912495</p>	-146.3623	hidrogen	4	Asn167 Val238 Thr239 Asn258	O ^{Acc} sebagai atom penerima proton , dan H ^{don} sebagai donor proton



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Lampiran VII. Posisi 8 senyawa *hits* pada protein 1SA1





UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R